

*Untersuchung humaner Körperflüssigkeiten und  
Ausscheidungsprodukte auf metall- und  
metalloidorganische Verbindungen mittels  
HG/LT-GC/ICP-MS*

**Inauguraldissertation**

zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Naturwissenschaften  
- Dr. rer. nat. -

Vorgelegt dem Fachbereich Chemie  
der Universität-GH Essen

von

Jutta Kresimon  
aus Mülheim an der Ruhr

Essen 2002

Vorsitzender des Prüfungsausschusses: Prof. Dr. P. Rademacher

1. Gutachter: Prof. Dr. A. V. Hirner
2. Gutachter: Prof. Dr. A. W. Rettenmeier

Tag der mündlichen Prüfung: 18.12.2002

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Umweltanalytik und Angewandte Geochemie des Fachbereiches Chemie (8) der Universität-GH Essen unter der Leitung von

Prof. Dr. A.V. Hirner

angefertigt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. A.V. Hirner für die Betreuung dieser Arbeit und Herrn Prof. Dr. A.W. Rettenmeier für die Übernahme des Koreferates.

Allen Mitgliedern des Institutes für Umweltanalytik danke ich für die gute Zusammenarbeit, im Besonderen Herrn Jörg Hippler für die Übernahme von zwei Gesamtgehaltsbestimmungen in Urinproben.

Weiterhin gilt mein Dank den Mitarbeitern des Institutes für Hygiene und Arbeitsmedizin des Universitätsklinikums Essen für die Durchführung der Blut-abnahmen.

# ***Inhaltsverzeichnis***

Kurzfassung  
Abstract

<b><i>Allgemeiner Teil</i></b>	<b>1</b>
<b>1 Metall- und metalloidorganische Verbindungen in Organismen</b>	<b>1</b>
1.1 Einleitung und Problemstellung	1
1.2 Physikalisch-chemische Eigenschaften	5
1.2.1 Stabilität	6
1.2.2 Aufnahme in die Biosphäre	7
1.2.3 Chemische und biochemische Umwandlungsprozesse in der Umwelt	8
1.3 Stoffwechsel im menschlichen Körper	11
1.3.1 Die Lunge	13
1.3.2 Die Haut	13
1.3.3 Das Blut	15
1.3.4 Der Verdauungstrakt	17
1.3.5 Die Niere	19
1.3.6 Biotransformation	20
1.3.7 Biologisches Monitoring und Biologische Arbeitsstoff-Toleranz-Werte	20
1.4 Humantoxikologie	22
1.4.1 Quecksilber	23
1.4.1.1 Expositionsquellen	23
1.4.1.2 Elementares Quecksilber und Amalgam	24
1.4.1.3 Quecksilberverbindungen	27
1.4.1.4 Biologische Wirkung	30
1.4.1.5 Vergiftungsfälle	35
1.4.2 Arsen	37
1.4.2.1 Expositionsquellen	37
1.4.2.2 Inkorporation und toxikologische Wirkung	38
1.4.3 Zinn	44
1.4.3.1 Expositionsquellen	44
1.4.3.2 Inkorporation und toxikologische Wirkung	45
1.4.4 Blei	47
1.4.4.1 Expositionsquellen	47
1.4.4.2 Inkorporation und toxikologische Wirkung	47
1.4.5 Antimon und Bismut	49
1.4.6 Selen	51
1.5 Einsatz von Chelatbildnern	55
1.5.1 Chemische Chelatbildner	56
1.5.2 Pflanzliche Chelatbildner	57
1.5.2.1 Die Süßwasser-Mikroalge Chlorella pyrenoidosa	57
1.5.2.2 Das biologische Präparat Asparagus P	59

<b>Analytischer Teil</b>	60
<b>2 HG/LT-GC/ICP-MS-Kopplung</b>	60
2.1 Derivatisierungstechniken	63
2.2 Die Hydridgenerierung mit Natriumborhydrid	65
2.2.1 Theoretische Grundlagen	65
2.2.2 Hydridgenerierung zur Verflüchtigung metall- und metalloorganischer Verbindungen in biologischen Proben	67
2.2.2.1 Bildung der flüchtigen metall- und metalloorganischen Verbindungen	68
2.2.2.2 Anreicherung der flüchtigen metall- und metalloorganischen Verbindungen	69
2.3 Das gaschromatographische Trennsystem	72
2.3.1 Physikalische Grundlagen der Gaschromatographie	73
2.3.2 Charakterisierung gaschromatographischer Systeme	74
2.3.3 Aufbau der LT-GC Trenneinheit	77
2.4 Massenspektrometer mit Plasmaanregung	80
2.4.1 Zufuhr und Ionisation der Probe	80
2.4.2 Aufbau der Detektionseinheit	82
2.4.3 Massennachweis	82
2.5 Identifizierung flüchtiger metall(oid)organischer Verbindungen	85
2.6 Quantifizierung flüchtiger metall(oid)organischer Verbindungen mittels Interelement-Interaggregat-Kalibrierung (IIK)	87
<b>Angewandter Teil</b>	90
<b>3 Urin</b>	96
3.1 Methodische Studien	96
3.1.1 Verhalten metall- und metalloorganischer Verbindungen beim „Purgen“ und Hydrieren	97
3.1.2 Zugabe von Standardsubstanzen zu Urinproben	98
3.1.3 Bestimmung der Standardabweichung	99
3.1.4 Standardaddition einer Monobutylzinnspezies	100
3.1.5 Analyse der Matrix Urin	103
3.2 Bestimmung von Basisgehalten der im Urin vorliegenden metall- und metalloorganischen Spezies anhand der Analyse von Urinproben der Bremer Bevölkerung	106
3.3 Biological monitoring des Urins eines Probanden	117
3.3.1 Vergleich der ermittelten Konzentrationen mit denen der Querschnittsstudie	118
3.3.2 Stabilität der Urinproben	119
3.4 Verzehr metall- und metallohaltiger Lebensmittel	120
3.4.1 Analyse der Urinproben von Meeresfrüchten und Fisch konsumierenden und nicht-konsumierenden Probanden	122
3.4.2 Gezielter Fischkonsum bei gleichzeitiger Kontrolle des	

	Ausscheidungsproduktes Urin	124
3.5	Einnahme des Schwermetallbinders <i>Asparagus P</i> bei gleichzeitiger Kontrolle des Urins	130
3.6	Inhalation einer arsenorganischen Verbindung	135
<b>4</b>	<b>Stuhl</b>	136
4.1	Analyse der Matrix der Alge <i>Chlorella pyrenoidosa</i> und Vergleich mit den Daten der Mineralstoffanalyse des Herstellers	137
4.2	Einnahme der Alge <i>Chlorella pyrenoidosa</i> mit Kontrolle des Ausscheidungsproduktes Stuhl	139
<b>5</b>	<b>Atem, Speichel und Haar</b>	147
5.1	Atem	147
	Analyse der Atemproben von Amalgam-Probanden und Probanden ohne Amalgamfüllungen	148
5.2	Speichel	152
5.2.1	Analyse der Matrix Speichel	154
5.2.2	Speichelanalyse nach der Entfernung von Amalgamfüllungen	155
5.3	Haar	161
	Analyse von Haarproben unbelasteter Probanden	162
<b>6</b>	<b>Blut</b>	166
6.1	Methodische Studie	168
6.1.1	Verhalten metall- und metalloorganischer Verbindungen beim Purgen bzw. Hydrieren	168
6.1.2	Verwendung eines Entschäumerpräparates bei der Hydrierung von Blutproben	170
6.1.3	Unterschiedliche Probennahmeröhrchen in der Blutanalyse	174
6.1.4	Addition von metall- und metalloorganischen Verbindungen	178
<b>7</b>	<b>Übergreifende Studien</b>	180
7.1	Entfernung von Amalgamfüllungen bei gleichzeitiger Kontrolle der metall(oid)organischen Ausscheidungen über Urin und Stuhl	180
7.2	Vergleich der Atem-, Speichel- und Urinproben von drei Probanden vor und nach Verzehr einer metall- und metallohaltigen Mahlzeit	188
<b>8</b>	<b>Referenzmaterialien</b>	198
8.1	Analyse des Muschelgewebes CRM 477	199
8.2	Analyse der Thunfischgewebe CRM 464 und CRM 627	201
<b>9</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	204
<b>10</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	211
	<b>Anhang</b>	222

# Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung von Fremdstoffen im Organismus	12
Abbildung 2: Zusammensetzung und Aufgaben des Blutes	16
Abbildung 3: Schematische Darstellung der Arsenmethylierung	40
Abbildung 4: Stoffwechsel des Selen im menschlichen Körper	53
Abbildung 5: Chelatbildner bei Metallintoxikation	57
Abbildung 6: Schematische Darstellung des Kopplungssystems	61
Abbildung 7: Schematische Darstellung der Hydrierapparatur	68
Abbildung 8: Graphische Darstellung der van-Deemter-Gleichung	76
Abbildung 9: Gaschromatographisches Trennsystem	78
Abbildung 10: Kopplung des GC-Trennsystems mit Zerstäubereinheit und Plasmafackel des ICP-MS	81
Abbildung 11: Blockschema eines ICP-MS	82
Abbildung 12: Korrelation von Siedepunkt und Retentionszeit für 26 Spezies	85
Abbildung 13: Standardaddition von $\text{BuSnCl}_3$ zu einer Urinprobe	101
Abbildung 14: Vergleich von Arsenspezieskonzentrationen im Urin von Frauen und Männern	107
Abbildung 15: Vergleich von Antimonspezieskonzentrationen im Urin von Frauen und Männern	109
Abbildung 16: Vergleich von Zinnspezieskonzentrationen im Urin von Frauen und Männern	110
Abbildung 17: Vergleich von Quecksilberspezieskonzentrationen im Urin von Frauen und Männern	111
Abbildung 18: Korrelation des Mono- und des Dimethylantimons in den Urinproben von 32 Probanden der Bremer Querschnittsstudie	113
Abbildung 19: Chromatogramme der Elemente Arsen, Zinn, Selen und Quecksilber zu Urinproben von Probanden der Bremer Querschnittsstudie	115
Abbildung 20: Verteilung hydrierbarer Arsenkomponenten in einer unbelasteten Humanurinprobe	118
Abbildung 21: Vergleich von Arsenspezies im Urin eines Fisch- und eines Nicht-Fisch-Konsumenten	122
Abbildung 22: Chromatogramm des Arsens in einer Urinprobe 14 Stunden nach Verzehr einer Fischmahlzeit	125
Abbildung 23: Vergleich der Konzentrationen von Arsenspezies im Urin nach dem Verzehr einer Fischmahlzeit	126
Abbildung 24: Vergleich der Quecksilber-Chromatogramme von den Urinproben vor und nach Verzehr einer Fischmahlzeit und der Fischprobe	127
Abbildung 25: Chromatogramm des Selen hinsichtlich der Urinprobe 21 Stunden nach dem Verzehr einer Fischmahlzeit	129
Abbildung 26: Chromatogramm des Elementes Quecksilber zu der zwei Tage nach der Einnahme von <i>Asparagus P</i> gewonnenen Urinprobe	131
Abbildung 27: Nachweis unbekannter Quecksilberspezies im Urin	131
Abbildung 28: Zeitlicher Verlauf der Quecksilberspezies in den Urinproben nach Einnahme des Schwermetallbinders <i>Asparagus P</i>	132

Abbildung 29: Vergleich der im Urin nachgewiesenen Gesamtkonzentrationen der hydrierbaren Spezies der Elemente Quecksilber, Arsen, Zinn und Selen vor und nach Einnahme von <i>Asparagus P</i>	134
Abbildung 30: Ausscheidung von Arsen nach Inhalation einer Arsenverbindung	135
Abbildung 31: Konzentrationsverlauf des anorganischen Germaniums in den Stuhlproben eines Probanden bei gleichzeitiger Einnahme der Alge <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	140
Abbildung 32: Konzentrationsverläufe der hydrierbaren Spezies des Arsens in den Stuhlproben eines Probanden bei gleichzeitiger Einnahme der Alge <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	141
Abbildung 33: Konzentrationsverläufe organischer Zinnspezies in den Stuhlproben eines Probanden bei gleichzeitiger Einnahme der Alge <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	143
Abbildung 34: Konzentrationsverlauf des anorganischen Quecksilbers in den Stuhlproben eines Probanden bei gleichzeitiger Einnahme der Alge <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	144
Abbildung 35: Chromatogramm des Elementes Tellur in einer hydrierten Stuhlprobe eines unbelasteten Probanden	146
Abbildung 36: Elementares Quecksilber in Atemproben von zwei Amalgamträgern	149
Abbildung 37: Chromatogramm des Elementes Quecksilber in einer Speichelprobe eines Amalgamträgers	157
Abbildung 38: Chromatogramm des Elementes Quecksilber für eine unmittelbar nach der Amalgamentfernung genommene Speichelprobe	158
Abbildung 39: Zusammensetzung des in der Zahnmedizin überwiegend verwendeten gamma-2-freien Amalgams	160
Abbildung 40: Chromatogramm des Quecksilbers zu einer Kopfhhaarprobe	164
Abbildung 41: Antimonspezies in einer mit $\text{Me}_3\text{SbCl}_2$ versetzten Blutprobe	179
Abbildung 42: Verteilung der Spezies des Elementes Arsen auf die beiden Ausscheidungsprodukte Urin und Stuhl	183
Abbildung 43: Nachgewiesene Bismutspezies in einer Atemprobe nach Aufnahme von bismuthaltiger Nahrung	191
Abbildung 44: Konzentrationsverlauf des Bismuts im Urin vor und nach Verzehr einer bismutreichen Mahlzeit bei drei Probanden	192
Abbildung 45: Konzentrationsverlauf der Arsenspezies MMA, DMA und TMA im Urin eines Probanden nach Verzehr einer arsenhaltigen Mahlzeit	194
Abbildung 46: Konzentrationsverlauf des anorganischen Quecksilbers und des Monomethylquecksilbers in den Urinproben von drei Probanden nach Verzehr einer quecksilberreichen Kost	195
Abbildung 47: Prozentuale Verteilung von Arsenspezies in den Referenzmaterialien CRM 447, CRM 464 und CRM 627	202
Abbildung 48: Prozentuale Verteilung von Zinnspezies in den Referenzmaterialien CRM 447, CRM 464 und CRM 627	203



## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Absolute Nachweisgrenzen der Metall- und Metalloide	89
Tabelle 2:	Konzentrationseinstufung einiger Elemente im Urin, Blut und Haar unbelasteter Personen	91
Tabelle 3:	Nachweisgrenzen der Metalle und Metalloide in definierten Probenmengen	92
Tabelle 4:	Retentionszeiten und Siedepunkte der mittels der angewandten HG/LT-GC/ICP-MS-Kopplung nachweisbaren Spezies	93
Tabelle 5:	Gehalte nachgewiesener Spezies beim Hydrieren und nach einer weiteren Überführungszeit von zehn Minuten	97
Tabelle 6:	Wiederfindungsraten der einer Urinprobe zugesetzten Spezies	99
Tabelle 7:	Standardabweichungen für die in einer Urinprobe nachgewiesenen Spezies	100
Tabelle 8:	Addition von $\text{BuSnCl}_3$ zu einer Urinprobe	102
Tabelle 9:	Konzentrationen der in der Matrix Urin nachgewiesenen Anionen	103
Tabelle 10:	Konzentrationen der im Urin mittels ICP-MS-Lösungsanalytik nachweisbaren Elemente	104
Tabelle 11:	Prozentuale Verteilung der hydrierbaren Arsenspezies im Urin bei Frauen und Männern	107
Tabelle 12:	Prozentuale Verteilung der hydrierbaren Antimonspezies im Urin von Frauen und Männern	109
Tabelle 13:	Prozentuale Verteilung der Zinnspezies im Urin bei Frauen und Männern	110
Tabelle 14:	Im Urin eines Probanden über einen Zeitraum von 2,5 Jahren nachgewiesene Konzentrationen metall- und metalloidorganischer Verbindungen	117
Tabelle 15:	Spezieskonzentrationen der Elemente Arsen, Quecksilber und Zinn in Meeresfischen	120
Tabelle 16:	Prozentualer Vergleich von Arsenspezies im Urin eines Fisch- und eines Nicht-Fisch-Konsumenten	123
Tabelle 17:	Nachgewiesene hydrierbare Spezies im Urin nach Verzehr einer Fischmahlzeit	124
Tabelle 18:	Anionengehalte der Alge <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	137
Tabelle 19:	Vergleich der für die Alge <i>Chlorella pyrenoidosa</i> nachgewiesenen und der gemäß Hersteller vorliegenden Elementkonzentrationen	138
Tabelle 20:	Nachgewiesene Spezies in der Alge <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	138
Tabelle 21:	Anionengehalte der Matrix Speichel	154
Tabelle 22:	Gesamtgehalte der Metalle und Metalloide im Speichel	154
Tabelle 23:	Nachgewiesene hydrierbare Spezies in drei Speichelproben vor und nach der Entfernung von vier Amalgamfüllungen	156
Tabelle 24:	Hydrierbare metall- und metalloidorganische Spezies im Kopfhair von zwei Probanden	162
Tabelle 25:	Prozentuale Verteilung der Zinnspezies in Kopfhairproben von zwei Probanden	163
Tabelle 26:	Metall- und metalloidorganische Verbindungen im Blutserum eines unbelasteten Probanden	171
Tabelle 27:	Anwendungsgebiete der unterschiedlichen Blutentnahmeröhrchen	174

Tabelle 28: Nachgewiesene Quecksilberspezies in Urin- und Stuhlproben eines Probanden nach Entfernung von vier Amalgamfüllungen	181
Tabelle 29: Prozentuale Verteilung der nachgewiesenen Zinnkomponenten auf die menschlichen Ausscheidungsprodukte Urin und Stuhl	186
Tabelle 30: Nachgewiesene Verbindungen in Atemproben von drei Probanden vor und nach Verzehr einer metall- und metalloidgehaltigen Mahlzeit	189
Tabelle 31: Addition von $\text{BuSnCl}_3$ zu dem Referenzmaterial CRM 477	200

## Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
abs	Absolut
AES	Atomemissionsspektrometrie
As	Arsen
AsBet	Arsenobetain
AsC	Arsenocholin
As <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Arsen(III)oxid
BAL	2,3-Dimercaptopropanol
BAT	Biologische Arbeitsstoff-Toleranz
Bi	Bismut
BM	Biological Monitoring
CE	Kapillarelektrophorese
CGF	Chlorella-Growth-Faktor
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
cps	Counts per second
CRM	Zertifiziertes Referenzmaterial
D4	Octamethylcyclotetrasiloxan
D5	Decamethylcyclopentasiloxan
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
DMA	Dimethylarsinsäure
DMPS	Dimercaptopropansulfonsäure
DMSA	2,3-Dimercaptosuccinicacid
DMT	Dimethylzinn
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DRC	Dynamische Reaktionszelle
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EM	Environmental Monitoring
ETV	Elektrothermische Verdampfung
Ge	Germanium
GSH	Glutathion
H <sub>2</sub>	Wasserstoff
HETP	Bodenhöhe einer GC-Trennsäule
Hg	Quecksilber
HPLC	Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie
I	Iod
IC	Ionenchromatographie
ICP-AES	Induktiv-gekoppeltes-Plasma-Atom-Emissions-Spektrometrie
ICP-MS	Induktiv-gekoppeltes-Plasma-Massenspektrometrie
IIK	Interelement-Interaggregat-Kalibrierung
IUPAC	International Union for Pure and Applied Chemistry
K	Absolute Temperatur in Kelvin
Konz	Konzentration
LA	Laser Ablation
LD <sub>50</sub>	Letale Dosis
NaAsO <sub>2</sub>	Sodiumarsenat

NaBEt <sub>4</sub>	Natriumtetraethylborat
NaBH <sub>4</sub>	Natriumborhydrid
NaBPr <sub>4</sub>	Natriumtetrapropylborat
nasc	Nascierend
NWG	Nachweisgrenze
MAK	Maximale Arbeitsplatzkonzentration
MgClO <sub>4</sub>	Magnesiumperchlorat
MBT	Monobutylzinn
MMA	Monomethylarsonsäure
MMT	Monomethylzinn
m/z	Masse-Ladungs-Verhältnis
Pb	Blei
pH	Negativer dekadischer Logarithmus der H <sup>+</sup> -Ionen Konzentration
ppm	Parts per million
RSF	Realtiver Empfindlichkeitsfaktor
RT	Retentionszeit
σ	Standardabweichung
SAM	S-Adenosylmethionin
Se	Selen
Sb	Antimon
SbCl <sub>3</sub>	Antimontrichlorid
Sdp	Siedepunkt
Sn	Zinn
Te	Tellur
TBT	Tributylzinn
TMA	Trimethylarsen
TMAO	Trimethylarsenoxid
TMDA	Tetramethyldiarsen
TMT	Trimethylzinn
TOF	Time-of-Flight
WFR	Wiederfindungsrate
WHO	World Health Organisation
ZNS	Zentrales Nervensystem

## ***Kurzfassung***

Die hier vorgestellte HG/LT-GC/ICP-MS (hydride generation/low temperature-gas chromatography /inductively coupled plasma-mass spectrometry)-Kopplung ermöglicht eine simultane Speziierung der Elemente Antimon, Arsen, Bismut, Blei, Germanium, Iod, Quecksilber, Selen, Tellur und Zinn. Die Kombination des eigenkonstruierten gaschromatographischen Separationssystems mit einem ICP-MS-Detektor stellt ein exzellentes Verfahren zur Identifizierung von 44 Spezies mit Nachweisgrenzen im pg-Bereich dar.

Die Untersuchung klinischer Proben ist ein wichtiges Gebiet in der Elementspeziierung, die die Gesamtgehaltsbestimmung immer weiter in den Hintergrund drängt. Der Bedarf an Informationen über die Mobilität, Speicherung und Toxizität von metall(oid)organischen Verbindungen in biologischen Systemen wie dem menschlichen Organismus ist essentiell und erfordert Daten nicht nur über die Konzentration der vorhandenen Metall(oid)e, sondern auch über deren Bindungsformen.

Im Rahmen dieser Arbeit gelang die Anwendung der Multielement-Multispezies-Nachweismethode auf klinische Matrices. Hierbei konnten metall- und metalloïdorganische Verbindungen sowohl in den Körperflüssigkeiten Speichel und Blut, als auch in den menschlichen Ausscheidungsprodukten Atem, Haar, Stuhl und Urin nachgewiesen werden.

Da die Bindungsformen, in der die metall- und metalloïdorganischen Verbindungen in allen klinischen Proben mit Ausnahme der Atemproben vorliegen, der Gasanalytik so nicht zugänglich sind, wurden die Analyten mittels der Hydrierungstechnik in ihre korrespondierenden flüchtigen Derivate überführt, welche dann der Separationseinheit zugeführt wurden.

Studien mit Kontrolle des Ausscheidungsproduktes Urin zeigten die Auswirkung von Fischverzehr auf Arsen- und Quecksilberkonzentrationen in den Urinproben oder die forcierte Ausscheidung von Arsen-, Selen-, Quecksilber- und Zinnverbindungen nach Einnahme des metall- und metalloïdbindenden Präparates Asparagus P.

Studien mit Kontrolle des Ausscheidungsproduktes Stuhl zeigten die forcierte Ausscheidung von Germanium-, Arsen-, Quecksilber- und Zinnverbindungen nach Einnahme der metall- und metalloïdbindenden Alge Chlorella pyrenoidosa.

Ein Vergleich der Atemproben von Probanden mit und ohne Amalgamfüllungen lieferte den Nachweis von elementarem Quecksilber in der Expiration der Amalgamträger, wohingegen im Atem der amalgamfreien Probanden kein Quecksilber nachgewiesen wurde.

In Speichelproben, die unmittelbar nach der Entfernung der Amalgamfüllungen genommen wurden gelang der Nachweis von Methyl-, Dimethyl- und Ethylmethylquecksilber.

Ebenso konnten in Stuhlproben ein und zwei Tage nach der Entfernung von vier Amalgamfüllungen Methyl- und Dimethylquecksilber nachgewiesen werden.

Nach dem Verzehr einer mit anorganischen Bismutsalzen angereicherten Mahlzeit konnte in Atemproben Mono- und Trimethylbismut sowie in Urinproben Mono- und Dimethylbismut nachgewiesen werden.

Die hier durchgeführte Speziierung bei Haarproben lieferte ein breites Spektrum an metall- und metalloïdorganischen Verbindungen.

Für die Spezies der Elemente Arsen, Bismut, Selen, Quecksilber und Zinn konnten die unterschiedlichen Eliminierungspfade aus dem menschlichen Organismus anhand der parallelen Kontrolle der Ausscheidungsprodukte Urin und Stuhl bestimmt werden.

Die Methylierung von Selen und Arsen im Organismus konnte nachgewiesen werden, wobei hier auch der Nachweis des Trimethylarsens in Humanurinen gelang.

Ferner wurden für die Elemente Antimon und Bismut erste in vivo Hinweise für deren Methylierung im Organismus gefunden. Die Studien über das Element Quecksilber lassen sogar auf die Methylierung anorganischen Quecksilbers sowohl in der Mund- als auch in der Darmflora schließen.

## ***Abstract***

The hyphenated instrumental analytical technique HG/LT-GC/ICP-MS (hydride generation/low temperature-gas chromatography /inductively coupled plasma-mass spectrometry) presented here enables the simultaneous speciation of the elements antimony, arsenic, bismuth, germanium, iodine, lead, mercury, selenium, tellurium and tin.

The combination of the self-designed separation system by gas chromatography with an ICP- MS detector represents an excellent procedure for the identification of 44 species with detection limits within the pg-range.

The investigation of clinical samples is an important area of the element speciation which continue to gain increasing importance compared to the total content determination. The need of information about the mobility, storing and toxicity of metal(loid)organic compounds in biological systems like the human organism is essential and requires data not only about the concentration of the available metal(loid)s but also about their binding conditions.

The application of this multi-element multi-species detection method to clinical matrices succeeded in this work. Here the existence of metal(loid)organic species could be proven both in the body fluids blood, saliva and urine, and in the human excretion products breath, faeces and hair.

Since with the exception of breath samples the binding forms of metal(loid)organic compounds in clinical samples are not accessible for gas analytics they were transferred by means of the hydride generation technique into their corresponding volatile derivatives, which were then transferred to the separate unit.

Studies with control of the excretion product urine showed an effect onto arsenic and mercury concentrations in the urine samples after consumption of a fish meal or the forced elimination from arsenic, selenium, mercury and tin compounds after intake of the metal and metalloid binding preparation Asparagus P.

Studies with control of the excretion product faeces showed the forced elimination from germanium, arsenic, mercury, and tin compounds after intake of the metal and metalloid binding alga *Chlorella pyrenoidosa*.

A comparison of breath samples of subjects with and without amalgam fillings lead to a proof of elemental mercury in the breath of the amalgam carriers, whereas in the breath of the amalgam-free subjects no mercury was detected.

Saliva samples taken immediately after the remove of the amalgam fillings succeeded in the detection of methyl- to dimethyl- and ethylmethylmercury.

In faeces samples taken one and two days after the remove of four amalgam fillings methyl- and dimethylmercury could be determined.

After the consumption of a meal enriched with inorganic bismuth the presence of mono- and trimethylbismuth could be proven in breath samples whereas mono- and dimethylbismuth could be detected in urine samples.

The speciation of hair samples accomplished here supplied a broad spectrum to metal(loid)organic compounds.

For the species of the elements arsenic, bismuth, selenium, mercury and tin the different excretion paths from the human organism could be determined by the parallel basic control of the urine and the faeces samples.

The methylation of selenium and arsenic in the organism could be shown, whereby in particular the detection of the trimethylarsenic in human urine was possible.

Further for the elements antimony and bismuth in-vivo indications to their methylation in the human body were found for the first time.

The studies of the element mercury suggest even the methylation of inorganic mercury is happening both in the human mouth and colon.

## Allgemeiner Teil

### 1 Metall- und metalloorganische Verbindungen in Organismen

#### 1.1 Einleitung und Problemstellung

Im Zuge seiner Auseinandersetzung mit der Umwelt wird der menschliche Organismus fortwährend durch die Resorption von Stoffen verändert und geprägt.

Alle Elemente des Periodensystems können gemäß ihrer biologischen Funktion in Gruppen unterteilt werden.

Periodensystem der Elemente																	
H 1																	He 2
Li 3	Be 4											B 5	C 6	N 7	O 8	F 9	Ne 10
Na 11	Mg 12											Al 13	Si 14	P 15	S 16	Cl 17	Ar 18
K 19	Ca 20	Sc 21	Ti 22	V 23	Cr 24	Mn 25	Fe 26	Co 27	Ni 28	Cu 29	Zn 30	Ga 31	Ge 32	As 33	Se 34	Br 35	Kr 36
Rb 37	Sr 38	Y 39	Zr 40	Nb 41	Mo 42	Tc 43	Ru 44	Rh 45	Pd 46	Ag 47	Cd 48	In 49	Sn 50	Sb 51	Te 52	I 53	Xe 54
Cs 55	Ba 56		Hf 72	Ta 73	W 74	Re 75	Os 76	Ir 77	Pt 78	Au 79	Hg 80	Tl 81	Pb 82	Bi 83	Po 84	At 85	Rn 86
Fr 87	Ra 88																
				=	Gruppe 1				=	Gruppe 3				=	Gruppe 5		
				=	Gruppe 2				=	Gruppe 4				=	Gruppe 6		

Die Gruppe 1 beinhaltet die Elemente, die für den Aufbau des menschlichen Organismus zuständig sind. Chlor, Kalium und Natrium übernehmen als Elektrolyte die Kontrolle der Osmose aller Körperflüssigkeiten (Gruppe 2).

Essentiell sind die Verbindungen der Gruppe 3, sie sind in Spuren im Organismus vorhanden, ohne ihre tägliche Aufnahme würden bestimmte biochemische Reaktionen zur Aufrechterhaltung der gesamten Körperfunktionen nicht ablaufen. Allerdings kann eine

Überdosierung aller Stoffe, häufig genannt werden hier die Verbindungen der Elemente der Gruppe 4 Arsen, Barium, Beryllium, Blei, Cadmium, Quecksilber und Thallium, eine toxische Wirkung auf den Organismus ausüben. Eine therapeutische Wirkung besitzen die Verbindungen der Elemente Brom, Gold, Lithium und Platin. Sie wirken durch ihren Einbau in entsprechende Moleküle der Entwicklung von Krankheiten entgegen. Weiterhin werden Elemente wie Antimon, Bismut, Bor, Cäsium, Germanium, Rubidium, Silber, Strontium, Thallium, Titan und Wolfram in nicht unwesentlichen Anteilen mit der Nahrung aufgenommen (Gruppe 6). Alle übrigen Elemente des Periodensystems besitzen ein geringes natürliches Vorkommen und sind nach heutigem Wissenstand für den Menschen unerheblich [Krachler und Irgolic 1999].

Seit Beginn der industriellen Revolution wurde anthropogen eine Vielzahl an organischen und anorganischen Verbindungen in die Umwelt eingebracht. Ein Großteil dieser Verbindungen enthält toxische Metalle, aber auch Verbindungen, die im Allgemeinen keinen Einfluss auf den Organismus ausüben, können in sehr hohen Konzentrationen schädlich wirken.

Die flüchtigen metall- und metalloorganischen Komponenten bilden durch ihr ambivalentes Lösungsverhalten einen wichtigen Teil dieser Verbindungen. Sie zeigen in polaren wie auch in unpolaren Stoffen deutlich Löslichkeit. Die Fettlöslichkeit wirkt sich entscheidend auf die Toxikokinetik der Metall(oid)e aus, da diese dadurch effektiver biologische Membranen durchdringen und in verschiedenen Teilen des Organismus akkumulieren können.

So findet die Verbindung Tributylzinn Verwendung als Fungizidzusatz zu Schiffsanstrichen oder als Biozid zur Imprägnierung von Leder oder Holz, während organische Bleiverbindungen lange Zeit als Kraftstoffzusatz verwendet wurden. Auch quecksilberorganische Verbindungen gelangen auf verschiedenen Wegen anthropogen in die Umwelt. Einerseits entstehen sie als Nebenprodukt industrieller Prozesse, fanden aber auch als Beizmittel für Getreide oder als Desinfektionsmittel Anwendung. Katastrophen wie die von Minamata (*Abschnitt 1.4.1.5*) spiegeln die prekären Folgen der unkontrollierten Abgabe quecksilberorganischer Verbindungen in das Ökosystem wieder. Ferner können chemische oder mikrochemische Prozesse in der Umwelt zu einer Transformation anorganischer Vorläufer, welche wiederum entweder anthropogenen oder natürlichen Ursprungs sind, in metall- und metalloorganische Verbindungen führen.



Zwei divergente Anforderungen betreffend der Präsenz metall(oid)organischer Verbindungen im menschlichen Organismus kristallisieren sich heraus: Das Vorliegen der essentiellen Elemente zur Aufrechterhaltung des gesamten Metabolismus und das Vermeiden der Überdosierung dieser Elemente und deren Verbindungen zur Verhinderung einer Schädigung im Organismus.

Die Konzentration der essentiellen Elemente wird im Organismus homöostatisch reguliert. Je nach Nahrungsaufnahme greift dieser bei mangelnder Versorgung auf ein körpereigenes Depot zurück, während bei einer Überdosierung eine Ausscheidung der entsprechenden Elemente veranlasst wird. Bei lipophilen Verbindungen jedoch können Anreicherungen in Zellen, Geweben oder Organen im Organismus entstehen.

Im Hinblick auf die Präsenz von diesen Verbindungen in biologischen Systemen existieren Schwellenwerten, bei denen eine Inkorporation in der Regel keine schädlichen Auswirkungen auf den Organismus darstellt.

Die Festlegung dieser Schwellenwerte ist insofern nicht trivial, da relevante Daten zur Resorption, Verteilung und Bioverfügbarkeit der einzelnen Elemente und ihrer Verbindungen im sowie zur Ausscheidung aus dem menschlichen Organismus oft nicht bekannt sind.

Eine Basis bildet die Identifizierung und Quantifizierung jeder vorliegenden chemischen Form, sei es ionisch, komplex gebunden oder gelöst und jedes Oxidationszustandes der einzelnen Elemente in Humanproben. Viele Methoden zur Bestimmung der Gesamtgehalte der in biologischen Proben vorliegenden Elemente sind etabliert, aber gerade diese Gesamtgehaltsbestimmung lässt keine Schlüsse über die tatsächlich vorhandene Belastung des Organismus zu. So ermöglicht beispielsweise bei der Analyse von Humanproben erst die Speziierung des Elementes Arsen in anorganisches Arsen, Mono-, Di- und Trimethylarsen eine Abschätzung der gesundheitlichen Gefährdung für den Menschen. Ebenso ist für eine Einschätzung einer Exposition mit anorganischem Quecksilber die Urinanalyse die Methode der Wahl, wohingegen organische Quecksilberverbindungen bevorzugt über Analysen des Blutes nachgewiesen werden.

Während die Speziierung eines Elementes in einer festgelegten Matrix noch relativ weit verbreitet ist, existieren jedoch nur wenige analytische Methoden zur simultanen Multielement-Multispezies-Bestimmung.

Die Elementspezifizierung im toxikologischen Bereich der Forschung stellt eine große Herausforderung, bedingt durch die sehr geringen Konzentrationen der instabilen Spezies und Matrixeffekte der biologischen Proben, dar.

In der vorliegenden Arbeit wird eine Methode zur simultanen Multielement-Multispezies-Bestimmung in klinischen Proben vorgestellt, mit dem Ziel, durch ein *Screening* von metall- und metalloorganischen Verbindungen in verschiedenen Körperflüssigkeiten und Ausscheidungsprodukten des Menschen, Aufschluss über vorhandene Spezies zu erhalten. Ferner werden verschiedene Einflüsse, wie die Aufnahme metall- oder metallohaltiger Nahrungsmittel oder die Einnahme metallkomplexierender Präparate, auf die Akkumulation und die Verteilung der einzelnen Spezies im Organismus untersucht.

Um das weite Gebiet der Elementspezifizierung einzugrenzen, ist es obligat bestimmte Begriffe nur anhand der Definitionen der International Union for Pure and Applied Chemistry, IUPAC, zu verwenden.

So wird als *chemische Spezies* eine spezifische Form eines Elementes wie die isotopische Zusammensetzung, der Oxidationszustand und/oder die Komplex- oder Molekularstruktur definiert. Die Bezeichnung *Spezifizierungsanalyse* meint die analytische Aktivität der Identifizierung und/oder Quantifizierung einer oder mehrerer chemischer Spezies in einer Probe, während der Begriff *Spezifizierung* die Aufteilung eines Elementes in seine definierten chemischen Spezies in einem System zusammenfasst [Templeton et al. 2000].

## 1.2            *Physikalisch-chemische Eigenschaften*

Als metallorganische Verbindungen werden Substanzen bezeichnet, die mindestens eine Bindung zwischen einem Metall- und einem Kohlenstoffatom aufweisen. Stellen Halbmetalle wie Germanium (Ge), Arsen (As), Selen (Se) oder Tellur (Te) das Zentralatom, wurde von Thayer [1988] die Bezeichnung metalloorganisch eingeführt.

Die teilmethylierten metall- und metalloorganischen Verbindungen weisen ein ambivalentes Lösungsverhalten auf. Sie zeigen in polaren wie auch in unpolaren Stoffen eine deutliche Löslichkeit. Die Lipidlöslichkeit beeinflusst ihre Toxizität entscheidend, da sie dadurch die Fähigkeit besitzen, in lebende Zellen einzudringen und dort ihre schädliche Wirkung zu entfalten. Auch die ausschließlich lipophilen permethylierten metall(oid)organischen Verbindungen wie Dimethylquecksilber, Trimethylarsen, Tetramethylzinn und Tetramethylblei können unter Umweltbedingungen entstehen. Sie sind unter Normalbedingungen gasförmig oder leicht verdampfbare Flüssigkeiten, die schnell in die Atmosphäre gelangen können.

Zu den flüchtigen metall- und metalloorganischen Verbindungen zählen Hydride, Alkyle, Carbonyle und einige Halogenide verschiedenster Elemente. Eine entsprechend hohe Affinität zu den Elementen Kohlenstoff und Wasserstoff ist hierfür die Voraussetzung. Elemente mit hoher Affinität zum Wasserstoff sind die so genannten Hydridbildner Arsen, Antimon, Bismut, Bor, Blei, Germanium, Phosphor, Selen, Silizium, Tellur und Zinn. Hydride sind Verbindungen, die den Wasserstoff in negativ polarisierter Form enthalten. Eine ähnliche Polarisierung erfährt der Kohlenstoff im Falle einer kovalenten Bindung an ein Metall oder Metalloid.

### 1.2.1 Stabilität

Aussagen über die Stabilität einer Verbindung können nur relativ zu einem Bezugssystem getroffen werden. Die Stabilitäten der metall- und metalloorganischen Verbindungen werden in Bezug auf Sauerstoff, Licht, Temperatur, Feuchtigkeit und biologische Systeme definiert. Die meisten dieser Verbindungen sind sauerstoffempfindlich und damit unter aeroben Bedingungen thermodynamisch nicht stabil. Ihre Bildung kann demnach nur in einer stark reduktiven Atmosphäre erfolgen, bei Kontakt mit der Umgebungsluft werden sie rasch demethyliert.

In einer metall(oid)organischen Verbindung ist die Metall(oid)-Kohlenstoff-Bindung die thermodynamisch instabilste Bindung. Bei den permethylierten Spezies nimmt die Stabilität dieser M-C-Bindung in der Reihenfolge  $\text{Bi} < \text{In} < \text{Pb} < \text{Cd} < \text{Hg} < \text{Zn} < \text{Sb} < \text{As} < \text{Sn} < \text{Ga} < \text{Al} < \text{P} < \text{B} < \text{C} < \text{Si}$  zu [Feldmann 1995]. Die Spaltung der M-C-Bindung, die infolge der unterschiedlichen Elektronegativitäten der Elemente polarisiert ist, erfolgt in den meisten Fällen nicht homolytisch. Methylierte Bismut- und Bleiverbindungen stellen wegen der hohen Elektronegativitätsunterschiede und der damit verbundenen starken Polarisierung der M-C-Bindung die am wenigsten stabilen metallorganischen Verbindungen dar. Die starke Polarisierung wirkt sich ebenfalls negativ auf die Stabilität der Spezies in wässrigen Medien aus. Stark polarisierte M-C-Bindungen sind in Wasser instabil, wohingegen Verbindungen mit niedriger Polarität dieser Bindung im Wasser als stabil gelten. Die Stabilität in biologischen Matrices wird zusätzlich vom pH-Wert und den Redoxbedingungen im jeweiligen Medium beeinflusst.

Eine Kettenverlängerung bei den organischen Substituenten verringert die thermische Stabilität der metall- und metalloorganischen Verbindungen. So zerfällt Tetramethylblei bei 265 °C, der Zerfall des Tetraethylbleis tritt hingegen bereits bei 110 °C ein.

Aus den thermodynamischen Daten wird deutlich, dass die meisten metall(oid)organischen Verbindungen unter Normalbedingungen instabil sind. Diese Tatsache wirkt sich erschwerend auf die Analytik aus: Bei der Bearbeitung der Proben sollte darauf geachtet werden, die Spezies möglichst in ihrem ursprünglichen Zustand zu erhalten.

### 1.2.2 Aufnahme in die Biosphäre

Natürliche und anthropogene Stoffe werden durch Böden filtriert und dort gespeichert. So kann beispielsweise Selen über Pflanzen und Pilze aus dem Boden aufgenommen werden. Einige Pflanzen akkumulieren Selen in hohen Konzentrationen, andere reichern das Halbmetall selbst auf stark selenhaltigen Böden nicht nennenswert an. Bei der Untersuchung von Obst zeigte Newland [1982], dass Selen nicht über die Oberfläche der Früchte aufgenommen wurde, sondern über die Wurzeln ins Fruchtfleisch gelangte. Unkräuter vom Genus *Astragalus sp.* gehören zu den bekanntesten selenspeichernden Pflanzen, sie können in Einzelfällen eine Selenkonzentration von bis zu 20 mg/g aufweisen.

In Forellen wurde die Bioakkumulation von Tetramethylblei nachgewiesen [Crompton 1998]. Der Tetramethylbleigehalt im Gewebe der Fische lag bis zu 900-mal höher als die Konzentration im kontaminierten Gewässer.

Die Bioakkumulation von alkylierten Zinnverbindungen und Methylquecksilber in Pilzen [Fischer et al. 1995], Fischen und anderen Meerestieren [Boyer 1989, Akagi et al. 1995, Egeland und Middaugh 1997] ist häufig nachgewiesen worden.

Über diese Akkumulation von Metallen und Metalloiden und die teilweise im Speichermedium stattfindende Biomethylierung gelangen die Metall(oid)e in die Nahrungskette von Tier und Mensch.

Große Bedeutung für die Verfügbarkeit von Gefahrstoffen kommt den Huminstoffen zu, deren Fähigkeit, bestimmte Stoffe zu binden und damit deren Umweltverhalten drastisch zu beeinflussen, seit langem bekannt ist. Als Huminstoffe werden in Böden gebildete postmortale hochmolekulare organische Substanzen bezeichnet. Aufgrund ihrer hohen spezifischen Oberfläche und ihrer Struktur mit vielen funktionellen Gruppen und Hohlräumen haben sie eine wichtige Bedeutung beim Stofftransport in der Lithosphäre. Sie werden in der Natur gelöst im Grundwasser und in verschiedenen Lagerstätten, wie Sedimenten, Humus, Torf und Braunkohle gefunden. Die Huminstoffe komplexieren in der Umwelt akkumulierte Komponenten. Sie zählen zu den wichtigsten Sorbenten für Schwermetallkationen in terrestrischen wie auch aquatischen Ökosystemen, transportieren diese über weite Strecken und verbinden somit Land, Binnengewässer und Ozeane.

### 1.2.3 Chemische und biochemische Umwandlungsprozesse in der Umwelt

Die biotische oder abiotische Methylierung der Metalle und Metalloide erfolgt in der Umwelt unter anaeroben oder aeroben Bedingungen, sofern zur Biomethylierung befähigte Mikroorganismen, relativ hohe Konzentrationen (unter der zytotoxischen Wirkungsschwelle) an Metall(oid)en in leicht zugänglichen Formen (beispielsweise Ionen), sowie Methylgruppen-Donoren vorhanden sind. Die Biomethylierung ist aus umwelttoxikologischer Sicht von großer Bedeutung, da sich die Derivate im Vergleich zu den anorganischen Analoga aus denen sie entstanden sind, völlig different verhalten können. Bei vollständig ablaufender Biomethylierung entstehen permethylierte Metalle und Metalloide, die einen hohen Dampfdruck aufweisen. Diese sehr mobilen Spezies verflüchtigen sich unkontrolliert in die Atmosphäre. Zwar sind viele dieser Verbindungen instabil gegenüber ultraviolettem Licht, Wasser oder Sauerstoff, ihre Abbauprodukte bleiben jedoch partikulär gebunden und gelangen als teilmethylierte oder anorganische Verbindungen zurück in die Geosphäre, d. h. die Biomethylierung hat zu einer Metallverfrachtung geführt. Die beteiligten Mikroorganismen erreichen durch die Methylierung und Überführung der Metall(oid)e in die Gasphase eine Entgiftung ihres Lebensraumes.

Die Biomethylierung von Metallen und Metalloiden durch Mikroorganismen ist ein seit langem bekannter Prozess, den Challenger [1945] mit der Produktion von Trimethylarsen durch den Schimmelpilz *Scopulariopsis brevicaulis* (Abschnitt 1.4.2.2) erstmalig beschrieben hat. Folgestudien zeigten auch für Selenit und Tellurit eine Umwandlung zu Dimethylselen und Dimethyltellur [Challenger 1951], wohingegen Antimon keine Reaktion zeigte [Cullen und Reimer 1989].

Die Biomethylierung des Arsens entsprechend dem Challenger-Mechanismus ist für viele Mikroorganismen wie Pilze, Hefen und Bakterien in Gegenwart von Methylendonoren nachgewiesen [Cullen und Reimer 1989, Cullen et al. 1995]. Hierbei korreliert die Bildung der organischen Arsenverbindungen mit der mikrobiellen Aktivität.

Im Gegensatz zu Arsen sind für die Biomethylierung der Elemente Antimon und Bismut erst in neuerer Zeit Nachweise erbracht worden.

Die Bildung der flüchtigen Verbindung Trimethylantimon ist zwar für Mikroorganismen, bisher jedoch nicht für den menschlichen Organismus gezeigt worden [Bentley und Chasteen 2002]. Trimethylantimon wurde sowohl in der Gasphase über Bodenproben, welche mit Antimon(III)salzen versetzt waren [Gürleyük et al. 1997, Jenkins et al. 1998a],

als auch in Reinkulturen des Mikroorganismus *Scopulariopsis brevicaulis* [Jenkins et al. 1998b, Craig et al. 1999a] nachgewiesen. In weiterführenden Experimenten konnten Andrewes et al. [2000a] eine Dimethylantimonpezies als Zwischenstufe isolieren. Wie auch Smith et al. [2002a] postulierten sie für das Antimon einen Methylierungsmechanismus analog dem des Arsens. Ferner zeigten sie eine Hemmung der Arsenmethylierung durch *Scopulariopsis brevicaulis* in Anwesenheit von Antimon(III)-verbindungen [Andrewes et al. 2000b]. Weitergehende Studien sollen diese Hemmung im Hinblick auf die Beeinflussung der Vorgänge im menschlichen Organismus bei Anwesenheit beider Elemente untersuchen.

Smith et al. [2002b] wiesen die Bildung der flüchtigen Verbindungen Stibin, Di- und Trimethylantimon in der Gasphase über der Pilzkultur *Cryptococcus humicolus* nach 6 Tagen aerober und 18 Tagen anaerober Inkubation mit Antimon(V)-substraten nach. Michalke [1999 und 2000] fand die drei methylierten Antimonpezies in der Gasphase über einer mit Antimonchlorid versetzten Reinkultur von *Methanobacterium formicicum*.

Die mikrobielle Bildung des Trimethylbismuts wurde in einigen Studien gezeigt. So bewiesen Wickenheiser et al. [2000] bei Anwesenheit der in Kosmetik- und Haushaltsprodukten enthaltenen Polydimethylsiloxane D4 und D5 in Abwässern die Methylierung von Bismut. Eine Kultur des methylcobalaminproduzierenden Methanogens *Methanosarcina barkeri* ist nicht in der Lage, zugesetztes Bismut zu methylieren. Wurde die Kultur zusätzlich mit D4 und D5 versetzt, lies sich Trimethylbismut nachweisen. Nachfolgende Studien führen den fördernden Einfluss von D4 auf die Trimethylbismutproduktion auf dessen ionophor-ähnliche Wirkungsweise zurück [Meyer 2002].

Michalke et al. [1999] wiesen Trimethylbismut ferner in der Gasphase über einer Reinkultur von *Methanobacterium formicicum* nach.

Laborexperimente zeigten in Anwesenheit der Methylendonoren Selenocystein und Selenomethionin unter abiotischen Bedingungen die Bildung flüchtiger methylierter Selenspezies [Amouroux et al. 2000].

Ebenso besitzen viele Pflanzen und Algen die Fähigkeit, akkumulierte Selenverbindungen in flüchtige Komponenten wie Methyl- oder Dimethylselenid umzuwandeln. Challenger [1945] postulierte für die biologische Umwandlung des Tellurs Mechanismen analog denen des Selens. Van Fleet-Stalder und Chasteen [1998] zeigten die Bildung von Dimethylselen, Dimethyldiselen und Dimethyltellur in der Gasphase über einer

schwefelfreien, mit metallischem Selen oder Tellur versetzten Bakterienkultur. Bei Anwesenheit beider Metalle wurde ein Anstieg der Dimethyltellurproduktion beobachtet. Schedlbauer und Heumann gelang [1999] der Nachweis von Dimethylthallium im Atlantischen Ozean. Anhand von Inkubationen eines mit Thallium(I)nitrat versetzten Ozeansediments unter anaeroben Bedingungen demonstrierten sie die Biomethylierung von Thallium in der Umwelt [2000].

Die Biomethylierung des Hg(II)chlorids zu Methylquecksilber in vivo wurde beispielsweise anhand von zwei Pilzkulturen [Fischer et al. 1995] und von Makroalgen in Seewasser [Pongratz und Heumann 1998] gezeigt.

Ferner wurde in den letzten Jahren eine stetige Zunahme der Konzentration von Methylquecksilber in der Biomasse der nördlichen Everglades in Florida, USA, beobachtet. Die Methylierung des Quecksilbers tritt bevorzugt in Sedimentnähe auf und wird durch sulfatreduzierende Bakterien unterstützt. Besonders hohe Methylquecksilbergehalte wurden in Tieren, deren Nahrung bevorzugt aus Wasserorganismen besteht, wie Alligatoren, dem Florida Panther und Fischen, nachgewiesen [Cleckner et al. 1998].

Die Übertragung der Methylgruppen kann auf unterschiedliche Weise erfolgen. Die der Biomethylierung zugrunde liegenden molekularen Prozesse sind von der Eigenschaft der Metalle bzw. Metalloide sowie von den beteiligten Organismen abhängig. Sie kann enzymatisch katalysiert, durch mikrobielle Aktivität vermittelt oder als rein chemische Reaktion ablaufen, wobei in den meisten Fällen der Mechanismus der Methylgruppenübertragung weitgehend ungeklärt ist. Als biochemische Methylendonoren fungieren je nach Art der Mikroorganismen S-Adenosylmethionin, Gluthathion und andere Thiole oder Methylcobalamin, ein Abkömmling des Vitamins B<sub>12</sub>. Für Methylcobalamin konnte in steriler Umgebung eine Methylierungsaktivität gezeigt werden, ebenso für Natriumthioglykolat und einige Sulfide.

Nicht nur Bakterien, Pilze, Pflanzen oder Algen, sondern auch Tiere und der menschliche Organismus sind in der Lage, anorganische Metalle und Metalloide in methylierte Verbindungen zu überführen. Diese Biomethylierung im menschlichen Organismus wird ausführlich in *Abschnitt 1.4* behandelt.



### ***1.3 Stoffwechsel im menschlichen Körper***

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sind Produkte des Humanmetabolismus in verschiedenen Studien im Hinblick auf metall- und metalloidorganische Verbindungen analysiert worden. Die Analysen bezogen sich auf die Körperflüssigkeiten Speichel und Blut sowie auf die Ausscheidung der genannten Stoffe in Atem, Haar, Harn und Stuhl.

Die Verteilung von Fremdstoffen im Organismus wird durch eine Vielzahl gleichzeitig ablaufender Stoffbewegungen beeinflusst, wobei die Aufnahme dieser Stoffe über den Magendarmtrakt, die Lunge, die Haut und Injektion in das Blut oder in Körpergewebe erfolgen kann. Nach direkter Injektion in das Blut kann sich die Wirkung der Stoffe am schnellsten entfalten, gefolgt von Inhalation, Injektion in die Bauchhöhle (intraperitoneal), Injektion in den Muskel, Ingestion und Hautresorption. Die Geschwindigkeit und das Ausmaß der Aufnahme wie auch der Ausscheidung beeinflussen die toxische Wirkung eines Stoffes. Allerdings bestimmt letztlich nicht die aufgenommene Dosis die Wirkung einer Komponente, sondern ihre Konzentration am Zielorgan. Diese Konzentration hängt von der Art der Stoffaufnahme, den chemischen Eigenschaften des Stoffes, der Biotransformation und der Ausscheidung sowie von der Anatomie und Physiologie des Zielorgans ab.

Abbildung 1 zeigt die Wege der Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung von Fremdstoffen in einem Blockdiagramm.

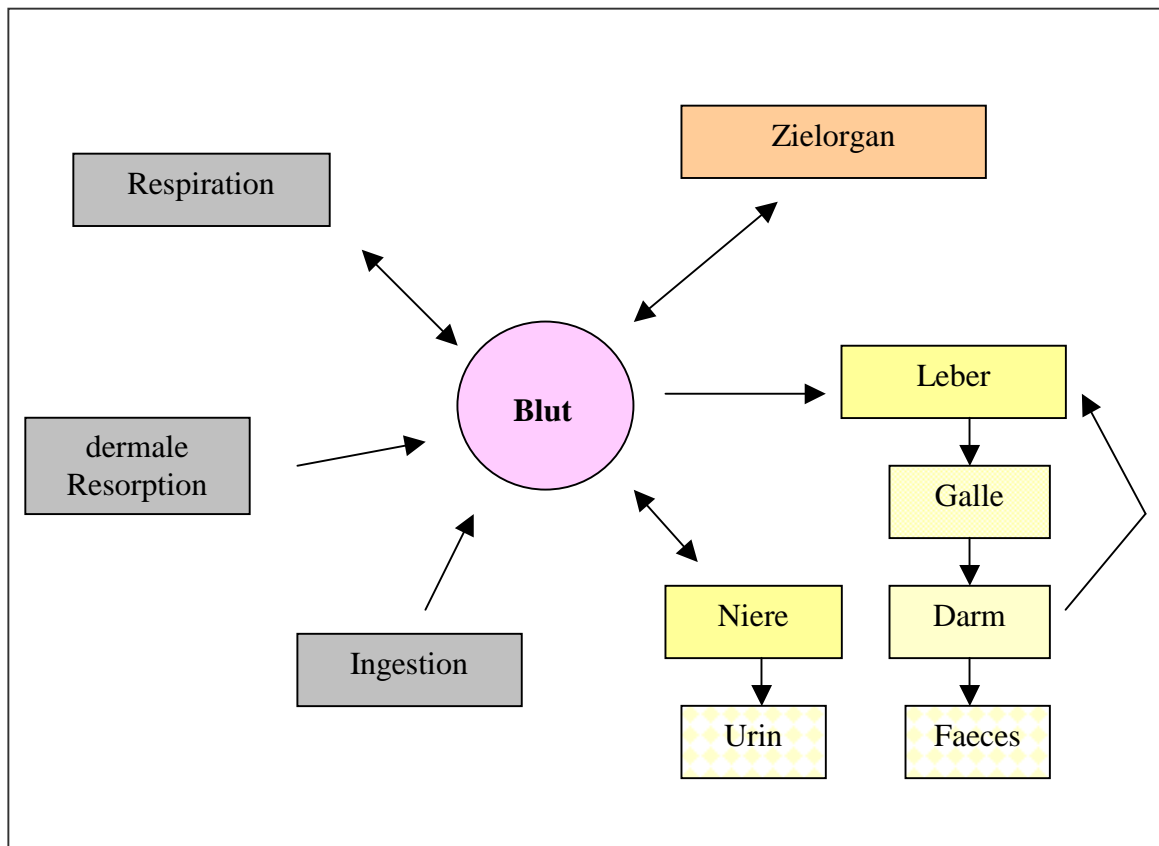


Abbildung 1 Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung von Fremdstoffen im Organismus

Das Blut übernimmt die wichtigste Rolle bei der Verteilung der aufgenommenen Stoffe im Organismus. Ihre Ausscheidung kann über die Niere mit dem Urin, über die Leber in den Darm und damit mit dem Stuhl und über die Lunge mit der Atemluft erfolgen.

Die Stofftransporte und die Stoffwechselprozesse sollen im Folgenden erläutert werden.

### **1.3.1 Die Lunge**

Durch die Lungenpforte treten Bronchien, Blut- und Lymphgefäße sowie Nerven in die Lunge ein. Die Bronchien verzweigen sich durch immer weitere Aufzweigungen, die kleinsten Äste gehen schließlich in die Lungenbläschen über. In den Alveolen geht der Sauerstoff durch die Kapillarwand in das Blut über, während gleichzeitig Kohlenstoffdioxid vom Blut in die Lungenbläschen abgegeben wird. Bei der pulmonalen Resorption von Gasen, Dämpfen und Aerosolen erfolgt der Stoffaustausch an der Alveolaroberfläche. Wegen der großen Austauschfläche von 80 bis 100 m<sup>2</sup>, der starken Durchblutung (5 L/min) und sehr kurzer Diffusionswege von 0,3 bis 1,7 µm bietet die Lunge gute Voraussetzungen für eine rasche Aufnahme der inhalierten Spezies in den Organismus. Die Diffusion ist abhängig vom Konzentrationsunterschied der Verbindung zwischen Alveolarluft und Blut. Die Einstellung des Gleichgewichtes zwischen Luft und Blut wiederum ist abhängig von der Größe des Löslichkeitskoeffizienten.

### **1.3.2 Die Haut**

Die menschliche Haut besteht aus drei Schichten: Oberhaut, auch Epidermis genannt, Lederhaut (Corium) und Unterhaut (Subkutis).

Die Oberhaut unterteilt sich nochmals in verschiedene Schichten. Ihre äußere Schicht, die Hornschicht (Stratum corneum), bildet die Kontaktstelle zwischen der Umwelt und dem Körper. Die Zellen greifen hier fest ineinander und haben einen sehr geringen Wassergehalt. In der unteren Schicht der Oberhaut werden ständig neue Hautzellen gebildet. Diese wandern an die Hautoberfläche und ersetzen die Zellen, die im Laufe der Zeit abgestoßen werden. Innerhalb von vier Wochen wird auf diese Weise die gesamte Oberhaut erneuert. Zwischen der Ober- und der Lederhaut befindet sich die Basalmembran. Sie soll gemeinsam mit dem Fettschutzmantel der Hautoberfläche als Barrierefunktion dafür sorgen, dass einerseits nicht zuviel Feuchtigkeit nach außen gelangen kann und andererseits Stoffe nicht nach innen dringen können. Der aus lipophilen Stoffen bestehende Schutzmantel liegt als dünner Film über der Hornschicht und ist ein zusätzlicher Schutz gegen äußere Einflüsse.

Die Resorption von Fremdstoffen über die Haut findet in sehr viel geringerem Maße statt als diejenige über die Schleimhäute. Auf Grund des aus lipophilen Stoffen bestehenden Schutzmantels besitzt die Haut den Charakter einer Lipidmembran und lässt somit bevorzugt lipophile bzw. amphiphile Substanzen passieren. Hydrophile und höhermolekulare Stoffe werden nur in geringem Umfang bzw. gar nicht über die Haut aufgenommen.

Eine typische Hautzelle besteht aus dem Zytoplasma, das etwa 72 Gewichtsprozent Wasser und 10 bis 20 % Proteine enthält, Nukleinsäuren, Lipiden und Zwischenprodukten des Stoffwechsels. Da der größte Teil der Lipide in der Plasmamembran und den intrazellulären Membranen lokalisiert ist, welche zu einer einheitlichen nicht wässrigen Phase der Zelle zusammengefasst werden können, verbleibt als Hauptkomponente der wässrigen Phase das Zellwasser selbst. Es folgen die Elektrolyte  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  und  $\text{PO}_3^{2-}$  des Zytosols, die für die kolligativen Eigenschaften, wie z. B. den osmotischen Druck und die Bioelektrizität der Membran, verantwortlich sind und mit den Proteinen weitgehend das intrazelluläre Milieu bestimmen.

### **1.3.3 Das Blut**

Das Blutgefäßsystem des menschlichen Körpers ist ein stark verzweigtes System, das nahezu zu jedem Gewebe des Organismus führt und somit alle Gebiete des Körpers verbindet. Die Hauptaufgaben des Blutes sind:

- der Sauerstofftransport von der Lunge zu den Stätten der Verbrennung und der Abtransport von Kohlenstoffdioxid zur Lunge
- der Transport von Nährstoffen von den Orten der Resorption zu denen des Verbrauchs
- der Abtransport von Stoffwechselprodukten vom Entstehungsort zu den Ausscheidungsorganen
- der Transport von Hormonen und Enzymen für die Regulierung von Stoffwechselprozessen
- die Beseitigung von Krankheitskeimen durch bestimmte Blutzellen
- der Transport von Immunstoffen, zellgebunden oder als Immunglobuline, zu den Stätten des Bedarfs
- die Konstanthaltung des Milieus der Körperzellen
- die wesentliche Mitwirkung bei der Wärmeregulierung des Organismus
- die intravasale Blutgerinnung als Schutz des Organismus vor der Verblutung

Die Zusammensetzung und die Aufgaben des Blutes sind als Übersichtsblockdiagramm in Abbildung 2 dargestellt.

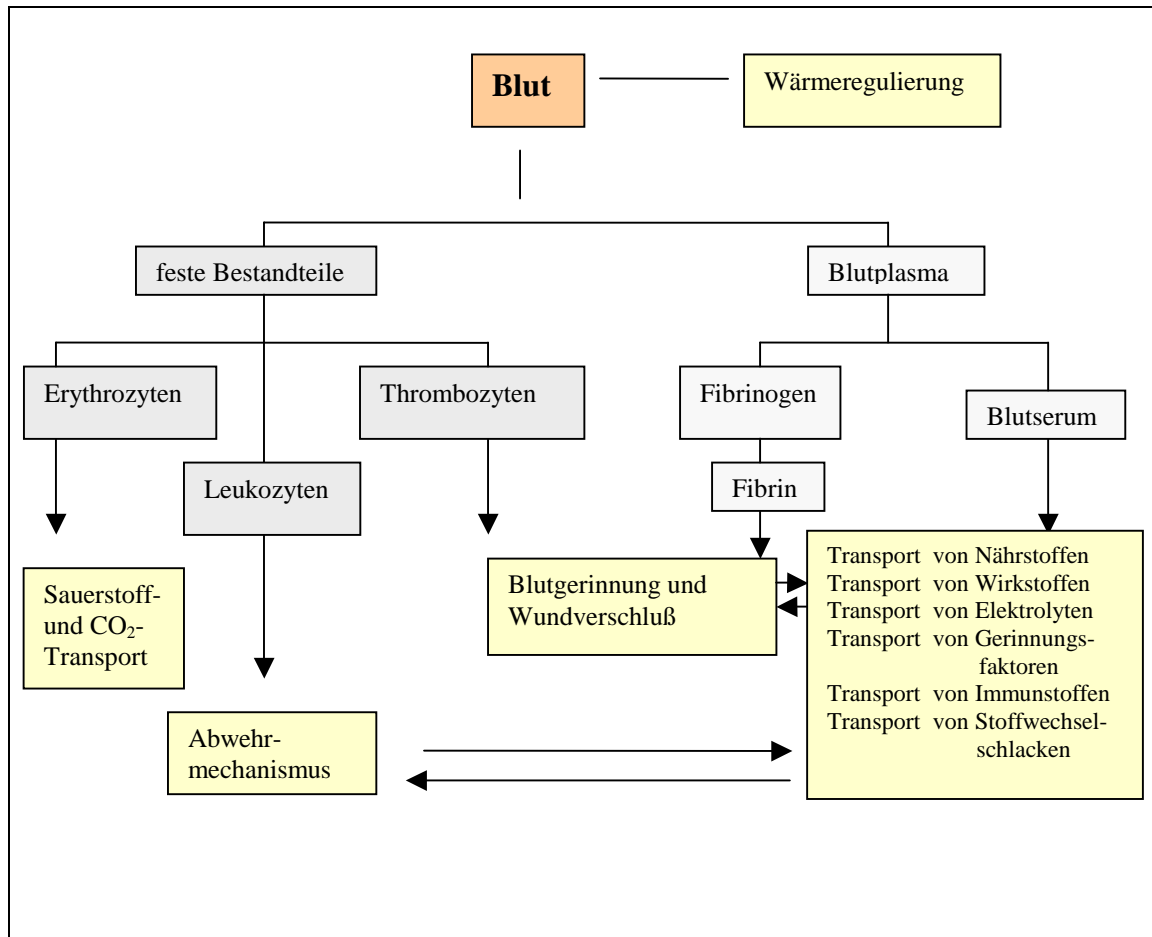


Abbildung 2 Zusammensetzung und Aufgaben des Blutes

Die Blutmenge beträgt bei einem Erwachsenen 6 bis 8 % der Körpermasse, so dass bei einer Frau etwa 4,5 L, bei einem Mann 5,5 L zirkulierendes Blut anzunehmen sind. Durch eine neurohumorale Regulierung sorgt der Organismus für konstante Blutmengenverhältnisse. Ebenso besteht in einem gesunden Organismus die Tendenz, die Relation von zellulärer und flüssiger Phase des Blutes sowie die Zusammensetzung des Blutes im Einzelnen unverändert zu halten. Bei einem gesunden Erwachsenen beträgt der Volumenanteil der Erythrozyten am Vollblut (Hämatokrit) im Mittel 44 Vol-%, der Anteil der Leukozyten und Blutplättchen (Thrombozyten) liegt stets unter 1 Vol-%.

Entscheidend für die Bewegungen von Fremdstoffen zwischen der wässrigen Blutphase und den einzelnen Verteilungsräumen des Organismus ist der Verteilungskoeffizient

*Lipidlöslichkeit/Wasserlöslichkeit.* Handelt es sich um einen Stoff, bei dem der Konzentrationsausgleich zwischen Blut und Gewebe schnell stattfindet, wird er sich zu Verteilungsbeginn in besser durchbluteten Organen höher anreichern als in weniger gut durchbluteten. Mit der Zeit kommt es zu einem Konzentrationsausgleich zwischen den unterschiedlich durchbluteten Verteilungsräumen, dieser Vorgang wird als Umverteilung bezeichnet.

Einen entscheidenden Einfluss auf die Verteilung der Stoffe im Organismus üben die unterschiedlichen Eigenschaften der Kapillärwände, die das Blut vom umliegenden Gewebe trennen, aus. Die Kapillärwände der Leber zeichnen sich beispielsweise durch eine besonders hohe, die Kapillaren im Bereich des zentralen Nervensystems (ZNS) durch eine sehr geringe Permeabilität aus. Im zentralen Nervensystem verhindert zudem die Blut-Hirn-Schranke, deren morphologisches Substrat das Kapillarendothel und perivaskuläre Gliastrukturen darstellen, die Filtration. Die Stoffbewegung vollzieht sich hier durch transzelluläre Diffusion.

Durch die Bindung und Einlagerung stark lipophiler Stoffe im gering durchbluteten Fettgewebe und durch die Bindung an Blut- und Gewebeproteine ist die wirksame freie Stoffkonzentration in der wässrigen Phase (Blut) geringer, als es der Stoffmenge im Organismus entspricht. Eine Konzentrationsbestimmung im Blut muss demnach kein Maß für die tatsächliche Belastung des Organismus sein.

#### **1.3.4 Der Verdauungstrakt**

Der Verdauungstrakt ist ein den menschlichen Körper durchziehendes, der Nahrungsaufnahme und Verdauung dienendes System, das mit der Mundöffnung beginnt, mit dem After endet und einer Dreigliederung unterliegt: Die Mundhöhle und die Speiseröhre dienen der Nahrungsaufnahme und -zerkleinerung. In Magen und Dünndarm wird die Nahrung enzymatisch in einfache resorbierbare Verbindungen gespalten. Im Dickdarm werden die Nahrungsreste größtenteils durch die Resorption von Wasser eingedickt, bevor sie ausgeschieden werden.

Bei der oralen Aufnahme von Fremdstoffen ist für das Durchdringen der Membranschranke des Gastrointestinaltraktes eine gute Lipidlöslichkeit und damit ein hoher Verteilungskoeffizient *Lipidlöslichkeit/Wasserlöslichkeit* gefordert. Eine gewisse

Hydrophilie ist jedoch unabdingbare Voraussetzung für die enterale Resorption, da vor dem Passieren der Membranen weite Strecken durch wässriges Medium zurückgelegt werden müssen.

Stoffe, die im sauren Magensaft ionisiert vorliegen, können nur in bedingtem Umfang durch die Magenschleimhaut resorbiert werden. Der durch den vorliegenden pH-Wert bedingte undissoziierte Anteil entscheidet über die Geschwindigkeit der Aufnahme und die Verteilung auf beiden Seiten der Zellschicht.

Im Verdauungstrakt werden Fremdstoffe in der Regel passiv durch Diffusion entlang eines Konzentrationsgradienten ins Blut aufgenommen. Für die Aufrechterhaltung eines steilen Gradienten sorgt die relativ hohe Durchblutung des Darms. Eine Bindung an Plasmaproteine steigert die Resorptionsgeschwindigkeit, da hierdurch die für das Diffusionsgleichgewicht wirksame freie Konzentration des Stoffes im Blut herabgesetzt wird. Nach der Aufnahme über den Dünndarm gelangen die Verbindungen zunächst mit dem Pfortaderblut in die Leber, dem primären Ort der Metabolisierung („*first pass effect*“). Von der Leber aus werden die Verbindungen zum Teil mit der Galle wieder in den Darm abgegeben, aus dem sie abermals resorbiert (enterohepatischer Kreislauf) oder ausgeschieden werden.

Im anaeroben Stoffwechsel der Darmflora des Menschen entstehen die Gase Wasserstoff und Kohlenstoffdioxid.  $\frac{1}{3}$  der Weltbevölkerung bilden aus diesen beiden Gasen Methan, wobei der Anteil der schwarzafrikanischen Population 90 % beträgt. Im Darm der „methannegativen“ Individuen wird der Wasserstoff von einem sulfatreduzierenden Bakterium zur Reduktion von Sulfat zu Sulfid genutzt. Gibson et al. [1988 und 1990] gelang der Nachweis dieser sulfatreduzierenden Bakterien ausschließlich in methannegativen Probanden, was zu der Annahme führte, dass sich die Methanproduktion und die Sulfatreduktion gegenseitig weitgehend ausschließen und dass ein Wettbewerb um das gemeinsame Substrat Wasserstoff besteht.

Weder die Ursache für die unterschiedliche Verteilung der Methanproduzierer auf die Bevölkerung der Welt noch die physiologische bzw. pathophysiologische Bedeutung einer überwiegend methanproduzierenden oder sulfatreduzierenden Darmflora sind geklärt. Während sich Methan in Bezug auf den menschlichen Organismus inert verhält, kann dies für die Metaboliten der Sulfatreduktion, Merkaptide, Merkaptofettsäuren und Schwefelwasserstoff, nicht angenommen werden. Besonders letzterer wirkt zytotoxisch.



### 1.3.5 Die Niere

Die Nieren liegen im Retroperitonealraum beidseits der Wirbelsäule. Von der Aorta zweigen zwei Gefäße ab, die für die Versorgung der Nieren zuständig sind. Zwei Venen führen das Blut zurück zur großen Körpervene. Über das Nierenbecken, die Harnleiter, die Harnblase und die Harnröhre wird der Urin nach außen transportiert.

Jede Niere besteht aus 500.000 bis 1 Mio. kleinster funktioneller Einheiten, den Nephronen. Diese wiederum bestehen aus dem Nierenkörperchen, den blutführenden winzigen Gefäßen und den Harnkanälchen. Die Nierenkörperchen sind die eigentlichen Filter, die Kanälchen transportieren und verarbeiten den gefilterten Harn.

Mit der Harnproduktion wird der Körper entgiftet und das Gleichgewicht des Körperwassers und der -salze aufrecht erhalten. Der Prozess der Harnproduktion wird durch die Filtration des Harns und seine Weiterverarbeitung bestimmt. Zuerst wird Harn in den Nierenkörperchen durch Filtration aus dem Blut gebildet. Dies gelingt, weil die winzigen Blutgefäße der Nierenkörperchen wasserdurchlässige Poren haben, durch die mit dem Wasser alle zu eliminierenden Stoffe durchgelassen werden, nicht aber die größeren Moleküle oder Zellen wie z. B. Eiweiße oder Blutzellen. Nach der Filtration fließt der Harn nicht direkt in die Blase, sondern wird in den Harnkanälchen so konzentriert, dass ein Großteil des ursprünglich filtrierte Wassers, zusammen mit weiteren wichtigen löslichen Blutbestandteilen wie Zucker und Salzen im Organismus verbleiben, während die zu entgiftenden Substanzen über den Harn ausgeschieden werden. Die chemische Zusammensetzung des Urins wird durch die Menge und Zusammensetzung der Nahrung sowie Alter und Geschlecht des Menschen bestimmt. Eine Harnprobe enthält neben Harnstoff als Hauptbestandteil, Harnsäure, Kreatinin, freie Aminosäuren, wasserlösliche Vitamine, Sulfat, Chlorid, geringe Mengen Nitrat sowie Natrium, Kalium, Calcium und Magnesium.

### **1.3.6 Biotransformation**

Die Biotransformation zählt zu den Vorgängen, welche zu einer Verminderung der Konzentration eines Fremdstoffes am Wirkort im Organismus führen. Die dadurch hervorgerufene Stoffveränderung führt in vielen Fällen zu einer „Entgiftung“. Häufig entstehen jedoch im Zuge der Metabolisierung auch chemisch reaktive Produkte, die zu einer Schädigung des Organismus führen (metabolische Aktivierung). Da andererseits in den Zellen auch gegenläufige Prozesse ablaufen, die eine Desaktivierung reaktiver Zwischenprodukte zur Folge haben, hängt die Konzentration toxischer Intermediate und damit die toxische Wirkung vom Ausmaß der Aktivierungs- und Desaktivierungsreaktionen ab.

Unabhängig von den Eigenschaften der metabolischen Produkte unterscheidet man zwei Reaktionstypen: Bei den Funktionalisierungsreaktionen werden an der Ausgangsverbindung funktionelle Gruppen eingeführt oder freigesetzt. Diese Phase I-Reaktionen umfassen Oxidation, Reduktion, Hydrolyse, Dealkylierung, Dehalogenierung und Ringbildung oder -spaltung und beeinflussen in den meisten Fällen die Wirkung eines Stoffes. Bei den Konjugationsreaktionen oder Phase II-Reaktionen werden in der Regel biologisch inaktive, wasserlösliche und damit leichter auszuscheidende Produkte gebildet, die durch Kopplung von meist sehr polarer Bestandteilen des Intermediärstoffwechsels, wie z. B. Glutathion, Schwefelsäure oder Aminosäuren, an die zuvor in einer Phase I-Reaktion eingeführten funktionellen Gruppen entstehen.

### **1.3.7 Biologisches Monitoring und Biologische Arbeitsstoff-Toleranz-Werte**

Die Anwendung leistungsfähiger analytischer Verfahren zum Nachweis von Fremdstoffen oder ihrer Wirkung in Körperflüssigkeiten oder Geweben hat unter der Bezeichnung „*Biological monitoring*“ (BM) für die Prävention von Gesundheitsschäden zunehmende Bedeutung erlangt. Es ergänzt wechselseitig das „*Environmental Monitoring*“ (EM), das beispielsweise die Überwachung der Einhaltung von Luftgrenzwerten umfasst. Zielhuis und Henderson [1986] beschreiben das BM als eine systematische oder wiederholt durchgeführte Sammlung biologischer Proben mit anschließender Bestimmung von Fremd-

stoffen oder deren Metaboliten. Es handelt sich um eine Maßnahme zur Bestimmung der Exposition und des Gesundheitsrisikos exponierter Personen, indem die Analysendaten mit einem Referenzwert verglichen werden. Für das BM werden vor allem Atem-, Harn- und Blutproben gewonnen. Andere Medien, wie Faeces, Schweiß, Speichel, Haare und Nägel kommen zwar grundsätzlich in Betracht, haben aber bisher kaum praktische Bedeutung erlangt. In der forensischen Medizin sind Gefahrstoffbestimmungen in weiteren Körpermedien, wie Muttermilch, Fett, Knochengewebe und Placenta üblich.

Mit dem BM können Schwankungen der inneren Belastung erfasst werden, die trotz gleicher Raumluftkonzentrationen auftreten können und zu einer unterschiedlichen Gefährdung der einzelnen Individuen führen. Sie resultieren beispielsweise aus variierenden über die Lunge aufgenommenen Stoffmengen infolge unterschiedlicher Atmungsintensitäten. Ferner tragen dazu individuelle zusätzliche Stoffaufnahmen durch die Haut, bedingt durch morphologische und physiologische Hautunterschiede, sowie Wechselwirkungen mit anderen chemischen oder physikalischen Belastungen und gesundheitliche Vorschäden bei.

Die Arbeitsgruppe „Aufstellung von Grenzwerten in biologischem Material“ der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) verabschiedet seit dem Jahre 1979 BAT-Werte für Arbeitsstoffe, denen folgende Definition zugrunde liegt: „Der BAT-Wert ist die beim Menschen höchstzulässige Quantität eines Arbeitsstoffes oder Arbeitsstoffmetaboliten oder die dadurch ausgelöste Abweichung eines biologischen Indikators von seiner Norm, die nach dem gegenwärtigen Stand der wissenschaftlichen Kenntnis im Allgemeinen die Gesundheit der Beschäftigten auch dann nicht beeinträchtigt, wenn sie durch Einflüsse des Arbeitsplatzes regelhaft erzielt wird. Wie bei den MAK-Werten (**M**aximale **A**rbeitsplatz**k**onzentration in der Luft) wird in der Regel eine Arbeitsstoffbelastung von maximal acht Stunden täglich und 40 Stunden wöchentlich zugrunde gelegt. BAT-Werte können als Konzentrationen, Bildungs- oder Ausscheidungsraten definiert sein. Sie sind als Höchstwerte für gesunde Einzelpersonen konzipiert und werden unter Berücksichtigung der Wirkungscharakteristika der Arbeitsstoffe und einer angemessenen Sicherheitsspanne in der Regel für Blut und/oder Harn aufgestellt. Maßgebend sind dabei arbeitsmedizinisch-toxikologisch fundierte Kriterien des Gesundheitsschutzes“.

#### 1.4 Humantoxikologie

Entscheidend für die Intoxikation mit Metall(oid)verbindungen ist u. a. die Art der Aufnahme in den menschlichen Körper sowie die chemische Bindung, in der das entsprechende Metall oder Metalloid vorliegt. Je nach Phasenzustand und Bindungsform des Metall(oid)es kann dieses den Organismus entweder ohne Metabolisierung passieren, oder Membranen penetrieren und in Organen akkumulieren. Die akkumulierten Verbindungen werden nur sehr langsam wieder ausgeschieden. Eine Veränderung des Oxidationszustandes beeinflusst die chemische Aktivität und folglich die Fähigkeit des Metall(oid)s, mit Liganden im Organismus zu reagieren. Damit hängt die Toxizität der metall- und metalloïdorganischen Verbindungen entscheidend vom Oxidationszustand ab, in dem sie präsent sind.

Die Kenntnis der toxischen Wirkung der unterschiedlichen Spezies eines Elementes im menschlichen Körper ist für die Beurteilung des Gefährdungspotentials unbedingt erforderlich.

Im folgenden Kapitel werden jene Metall(oid)e besprochen, die mobile Hydride und organische Spezies bilden und aus toxikologischer Sicht für den Menschen relevant sind.

### **1.4.1 Quecksilber**

#### **1.4.1.1 Expositionsquellen**

Quecksilber wurde schon vor mehr als vier Jahrtausenden für Kult-, Heil- und Gebrauchszwecke eingesetzt. Die Ägypter und Araber verwandten es in verschiedenen Verbindungen, beispielsweise als Heilmittel (Kalomel) oder als Tinte (Zinnober). Die Benutzung quecksilberhaltiger Verbindungen für die Behandlung von Syphilis reichte bis ins 20. Jahrhundert hinein. Quecksilbernitrat fand bei der Herstellung von Filz für die Hutmacherei Verwendung. Im anschließenden Trocknungsprozess wurden toxische Quecksilberstäube frei, die sich in den schlecht belüfteten Werkstätten anreicherten. In der Folge litten die Hutmacher häufig an psychischen Symptomen, was die Redewendung „verrückt wie ein Hutmacher“ prägte.

Verwendung findet elementares Quecksilber bei der Herstellung von Thermometern, Quecksilberlampen und Minibatterien und in der Zahntechnik (*Abschnitt 1.4.1.2*). Die größte Quecksilbermenge wird bei der großtechnischen Anwendung der Chlor-Alkali-Elektrolyse in der chemischen Industrie eingesetzt. Bei der Elektrolyse von Salzwasser zur Herstellung von Chlor und Natriumhydroxid wird flüssiges Quecksilber als mobile Kathode verwandt. Beim Abfluss der verdünnten Natriumchloridlösung aus der Amalgamerzeugungs- bzw. der Natronlauge aus der Amalgamzersetzungszone werden sowohl metallisches Quecksilber als auch Verbindungen des Quecksilbers mitgeführt. Zur Minderung der anthropogenen Emission in die Umwelt wurden aufwendige Reinigungsmechanismen der Abflüsse entwickelt, auch ist ein Rückgang der Quecksilberproduktion für die Chlor-Alkalie-Elektrolyse zu verzeichnen [Rippel 1990]. Aus toxikologischer Sicht sind besonders die zweiwertigen Quecksilberverbindungen wie das Beizmittel Quecksilbernitrat zu erwähnen, ferner Quecksilberchlorid und -oxid, die in der chemischen Industrie Anwendung finden. Da organische Quecksilberspezies wie Methyl-, Ethyl- und Phenylquecksilberverbindungen leicht in die Nahrungskette des Menschen eingeschleust werden, wurde ihre Verwendung als Fungizide und Pestizide unterbunden. Eine weitere Expositionsquelle ist der Verzehr von Fisch und Meeresfrüchten, vor allem von großen Raubfischen. Egeland und Middaugh [1997] zeigten, dass Frauen, die viel Fisch verzehrten, höhere Quecksilberkonzentrationen in Haaren, Nabelschnur und Herzblut aufwiesen als solche, die auf Fisch als Nahrungsmittel verzichteten.

Akagi et al. [1995] analysierten das Kopfhhaar und das Blut von den Bewohnern dreier Dörfer am Amazonas in Brasilien. Der Quecksilbergesamtgehalt im Kopfhhaar lag durchschnittlich bei 30 mg/kg, im Blut betrug der Durchschnittswert 123 µg Hg/kg, wobei der größte Teil des Quecksilbers in methylierter Form vorlag. In den Fischen der betreffenden Regionen des Amazonas konnten Quecksilberkonzentrationen von 0,01 bis 2,89 mg/kg nachgewiesen werden. Die geschätzten Quecksilbergehalte in Salzwasserfischen nicht kontaminierter Gewässer reichen von 0,018 bis 0,6 mg/kg, mit einem Anteil an methylierten Quecksilberverbindungen von mindestens 30 % [Sweet und Zelikoff 2001]. In den Vereinigten Staaten wurde der durchschnittliche Quecksilbergehalt in Speisefischen mit 0,13 mg/kg bestimmt [Mahaffey und Rice 1997], Studien in anderen Ländern ergaben Konzentrationen im ng/kg bis mg/kg Bereich [Han et al 1998]. Die meisten Studien nennen die Niere des Fisches als Organ der größten Anreicherung. Eine weitere Expositionsquelle im Kindesalter wiesen Redwood et al. [2001] nach. Kinderimpfstoffe enthalten Thimerosal als Bakterizid und Fungizid. Pro Impfung werden bis zu 25 µg Ethylquecksilber appliziert.

#### ***1.4.1.2 Elementares Quecksilber und Amalgam***

Zahnamalgam ist eine Mischung, welche zu ca. 50 % aus flüssigem Quecksilber besteht. Die andere Hälfte bildet ein Puder aus Kupfer, Silber, Zinn und Zink und Spuren anderer Schwermetalle wie Palladium. Im chemischen Sinne kann Amalgam nicht als Legierung betrachtet werden, sondern als eine lockere, umkehrbare Bindung der einzelnen Bestandteile (Gemenge). Im frisch zusammengeführten Zustand gleicht Amalgam einer Knetmasse, welche sich den Zahnhohlräumen gut anpasst, nach ungefähr 30 Minuten aushärtet und sich dabei noch etwas ausdehnt, so dass die Füllung sehr „dicht“ sitzt. Diese praktische Handhabbarkeit wie auch die geringen Materialkosten führten zu einer weiten Verbreitung dieses Werkstoffes.

Um 1826 wurde von M. Taveau eine Legierung aus Silber und Quecksilber für die Herstellung von Zahnfüllungen vorgeschlagen. Dazu wurde der Staub abgefeilter Silbermünzen mit flüssigem Quecksilber vermischt. Je nach Zusammensetzung der verwendeten Silbermünzen dehnte sich die Paste nach dem Aushärten soweit aus, dass daraus Zahnbrüche resultierten, oder die Füllungen schrumpften zusammen und fielen

heraus [Hupertz 1998]. In der damaligen Zeit wurde eine kontroverse Diskussion über den Gebrauch von Quecksilbergemengen als Zahnfüllung entfacht. Mitte des 19. Jahrhunderts distanzierte sich die *American Society of Dental Surgeons* von der Verwendung von Amalgam und schloss Mitglieder aus, die weiterhin diese Zahnfüllungen verwendeten („Quacksalber“). Der Widerstand der ausgeschlossenen Mitglieder und der wirtschaftliche Druck wurden jedoch so groß, dass die Auflösung der Gesellschaft und die Aufhebung des Amalgamverbotes erfolgten. Erst gegen Ende der 60er Jahre wurde die Diskussion über die Verwendung von Zahnamalgam wieder aufgenommen.

In der Sowjetunion wird seit 1975, in Japan seit 1982 kein Amalgam mehr für Zahnfüllungen verwendet. In den Vereinigten Staaten müssen Patienten bei der Füllung ihrer Zähne mit Amalgam aus juristischen Gründen der Versorgung schriftlich zustimmen, während in Deutschland die Verwendung von Zahnamalgam obligat ist, da es das einzige Füllmaterial ist, für das die Krankenkassen die gesamten Kosten tragen.

Bei den heute überwiegend verwendeten gamma-2-freien Amalgamen besteht das Gemenge aus Quecksilber und einem Pulver, das mindestens 40 % Silber, maximal 32 % Zinn, 30 % Kupfer und 2 % Zink enthält, womit in den fertigen Amalgamfüllungen das Quecksilber mit bis zu 50 % der Hauptbestandteil ist.

Die aus Amalgamfüllungen freigesetzten Schwermetalle können durch direktes Eindringen in die feinen Kanälchen der Zahnschubstanz (Dentinkanälchen), Anreicherung der Amalgambestandteile im Speichel oder Inhalation der dampfförmigen Amalgambestandteile in den Organismus gelangen. Das Herauslösen von Amalgam aus den Füllungen wird durch heiße und saure Speisen und Getränke, die mechanische Belastung beim Kauen oder galvanische Vorgänge zwischen unterschiedlichen Metallfüllungen in der Mundhöhle gefördert. Da Quecksilber gegenüber Halogenen sehr reaktiv ist, ist eine Freisetzung des Quecksilbers aus Amalgam bei der Verwendung von fluorhaltiger Zahnpasta nicht auszuschließen [Hupertz 1998].

Elementares Quecksilber wird bei der oralen Aufnahme auf Grund seiner kleinen Oberfläche vom Darm nur zu etwa 0,01 % resorbiert [Streit 1991]. Im Mittelalter wurde es sogar als Abführmittel verwendet [Magos 1998a]. Bei der oralen Aufnahme besteht die Gefahr einer akuten Intoxikation ab einer Menge von mehr als 8 mL [Hirner et al 2000a]. Im Gegensatz dazu können auf Grund des hohen Dampfdruckes des elementaren Quecksilbers bedeutende Mengen inhalativ aufgenommen werden.

Die Sättigungskonzentration beträgt bei 25 °C etwa 20 mg/m<sup>3</sup>. Der MAK-Wert für elementares Quecksilber ist auf 0,1 mg/m<sup>3</sup> festgelegt und liegt somit deutlich unter der Sättigungskonzentration bei Raumtemperatur. Die BAT-Werte für metallisches und anorganisches Quecksilber betragen im Blut 5 µg/L und im Harn 200 µg/L. Die geruch- und farblosen Quecksilberdämpfe werden zu etwa 80 % [Burg und Greenwood 1984] in den Alveolen aufgenommen. Von dort gelangt das Quecksilber in die Erythrozyten und mit diesen innerhalb weniger Minuten in den ganzen Körper. Es kann in dieser Form direkt die Blut-Hirn-Schranke passieren sowie in die Plazenta und alle anderen Organe gelangen. Dort findet im Rahmen einer Oxidation durch das Enzym Catalase die Bildung von positiv geladenen Quecksilber-Ionen statt, welche die Zellen auf Grund ihrer Größe viel schlechter wieder verlassen und sich dementsprechend anreichern können. Quecksilberdämpfe im Nasen- und Rachenraum gelangen über die dort gelegenen Nervenendigungen wie z. B. Riechnerv, Fazialisnerv, Vagusnerv, Trigeminus oder Zungennerv ins zentrale Nervensystem. Hier findet ebenfalls eine Oxidation des Quecksilbers statt. Die letale Dosis für elementares Quecksilber bei Einbringung in das Blut beträgt 0,2 bis 1 g.

Unter der Annahme, dass ein Mensch zwölf Zahnfüllungen aus Amalgam besitzt, was 3 bis 4 g reinem Quecksilber entspricht, müssten zwischen 5 und 30 % des Quecksilbers ins Blut gelangen, um eine Gefährdung darzustellen. Die Menge Quecksilber, die täglich aus den Zahnfüllungen entweichen kann, wird mit 2 bis 17 µg angegeben [Sandborgh-Englund 1998] und liegt somit im gleichen Konzentrationsbereich wie die Aufnahme von Quecksilber in den Organismus durch den Verzehr von Speisen und Getränken. Die korrespondierende Quecksilberausscheidung über den Harn beträgt 1 bis 5 µg/L, für Personen ohne Amalgamfüllungen werden Gehalte unter 1 µg/L angegeben [Begerow 1994]. Studien, die den Nachweis von Quecksilber in Speichel- [Lygre et al. 1999, Krauss et al. 1998] und Urinproben [Dunemann 1994] von Amalgamträgern liefern, sind in der Literatur weit verbreitet. Speichelanalysen von Amalgamträgern und Kontrollpersonen ohne Amalgamfüllungen wurden für elementares Quecksilber, Quecksilber(II)ionen (Hg<sup>2+</sup>) und Methylquecksilber durchgeführt, wobei Hg<sup>2+</sup> und Methylquecksilber in beiden Gruppen detektiert, elementares Quecksilber jedoch nur in der Gruppe der Amalgamträger nachgewiesen wurde. Eine Differenzierung der Probennahme in Speichel vor bzw. nach der Mundreinigung zeigte für die Kontrollgruppe keinen Unterschied, die Amalgamträger wiesen jedoch 10- bis 40fach höhere Hg<sup>2+</sup>-Konzentrationen vor als nach Durchführung der



Mundhygiene auf. Dies könnte durch eine Oxidation von  $\text{Hg}^0$  aus den Amalgamfüllungen zu  $\text{Hg}^{2+}$  erklärt werden [Liang und Brooks 1995]. Brett et al. [2001] wiesen in In-vitro-Studien das Durchsickern von Quecksilber aus Amalgamkapseln nach. Sie analysierten den Niederschlag und die Umgebungsluft in einem geschlossenen Polypropylengefäß, in dem eine Amalgamkapsel 60 Tage in deionisiertem Wasser ohne weitere Zusätze bei Raumtemperatur aufbewahrt wurde. Im Niederschlag konnten 15 µg, im Gasraum maximal 67 µg  $\text{Hg}/\text{m}^3$  detektiert werden. Skare und Engqvist [1994] fanden eine signifikante Korrelation zwischen der Gesamtquecksilberkonzentration im Stuhl und der Anzahl der Amalgamfüllungen, wobei die Ausscheidung über die Faeces durchschnittlich 20mal höher lag als die Quecksilberausscheidung über den Harn. Eine ebenfalls signifikante Beziehung zwischen der Anzahl der Amalgamfüllungen und dem Quecksilbergehalte im Urin wurde von Weiner und Nylander [1995] nachgewiesen. Ganss et al. [2000] sahen jedoch keine Korrelation bezüglich der Quecksilberkonzentrationen in Speichel, Blut und Urin bei Amalgamträgern. Ferner ergaben Studien [Herrström 1997, Mackert und Berglund 1997, Schuurs und Exterkate 2000, Traencker et al. 2001], dass zwischen den Amalgamfüllungen und einer potenziellen Gesundheitsschädigung kein Zusammenhang besteht.

#### 1.4.1.3 *Quecksilberverbindungen*

Quecksilber gilt als das giftigste Schwermetall, allerdings hängt seine toxische Aktivität entscheidend von der jeweiligen Verbindung ab, in der es vorliegt. Grundvoraussetzung für die Beurteilung des Gefährdungspotentials einer Quecksilberbelastung ist somit die Kenntnis der vorliegenden Spezies.

Den anorganischen Quecksilberverbindungen liegen die beiden geladenen Quecksilberformen  $\text{Hg}^+$  und  $\text{Hg}^{2+}$  zugrunde. Quecksilber(I)-verbindungen sind bedingt durch ihre geringere Löslichkeit in Wasser weniger toxisch als die entsprechenden Spezies der Oxidationsstufe +II. Auf Grund ihrer Größe sind die letzt genannten allerdings nicht in der Lage, die Blut-Hirn-Barriere zu überwinden [Jonsson 1999]. Die Resorptionsrate im Darm beträgt etwa 15 %. Größtenteils begründet sich die Toxizität der anorganischen Quecksilberverbindungen in ihrer hohen Thiophilie, die ihnen eine Bindung an Proteine ermöglicht, welche zu einer Blockierung von Enzymen (*Abschnitt 1.4.1.4*) führen kann

[Griefhahn 1996]. Die Affinitätskonstante für die Bindung der Quecksilberkationen an Thiolatanionen liegt im Bereich von  $10^{15}$  bis  $10^{20}$ . Im Vergleich dazu sind die entsprechenden Affinitätskonstanten für die Bindung an Carbonyl- oder Aminogruppen um den Faktor 10 geringer [Zalups 2000]. Bei der Belastung mit anorganischen Quecksilbersalzen kommt es ferner zu Nierenschäden. Diese wurden z. B. bei der Einnahme des Medikaments Kalomel oder beim Kontakt mit Rostschutzmitteln diagnostiziert. Zalups [2000] berichtet ausführlich über Bindungsformen und Reaktionen des Quecksilbers in der Niere, wobei die Anreicherung hauptsächlich in der Nierenrinde stattfindet.

Wie einige In-vitro-Studien zeigen, sind die Keime der Mund- und Darmflora [Yannai und Berdicevsky 1991] des Menschen in der Lage, anorganisches Quecksilber durch dessen Methylierung in organisch gebundenes Quecksilber zu überführen. Die Bakterien *Streptococcus mitior*, *Streptococcus mutans* und *Streptococcus sanguis* der Mundflora wurden Quecksilberchlorid und pulverisiertem Amalgam als Quecksilberquellen ausgesetzt. Nach einer Inkubationszeit von vier Tagen konnte in allen Bakteriensträngen Monomethylquecksilber detektiert werden [Heintze et al. 1983]. Ludwicki [1989] untersuchte die Methylierung anorganischer Quecksilberverbindungen in Darmschlingen männlicher Ratten, die in vitro mit Quecksilberchlorid inkubiert wurden. Hierbei war Monomethylquecksilber mit Anteilen von bis zu 1 % in allen Darmsegmenten nachweisbar.

Die quecksilberorganischen Verbindungen sind toxikologisch betrachtet die relevantesten Quecksilberkomponenten. Sie sind bis zu 100mal giftiger als lösliche anorganische Spezies. Der BAT-Wert für Alkylquecksilberverbindungen liegt bei  $10 \mu\text{g Hg/dL}$  Blut. Ihre sehr ausgeprägte Lipophilie ermöglicht eine leichte Penetration biologischer Membranen wie der Blut-Hirn-Barriere oder der Plazenta-Schranke. Methylquecksilber(II)-verbindungen zeigen auf Grund ihrer relativ stabilen Quecksilber-Kohlenstoff-Bindung die höchste Toxizität. Experimente in Mäusen [Suzuki 1963] und Ratten [Magos et al. 1983] ergaben bei Inkorporation gleicher Konzentration von Ethyl- und Methylquecksilber höhere Ethylquecksilberkonzentrationen im Blut und höhere Methylquecksilberkonzentrationen im Gehirn. Ethylquecksilber kann auf Grund seiner Größe und des schnellen Abbaus im Organismus die Blut-Hirn-Barriere nicht durchdringen. Weitere Studien ergaben, dass von intravenös injiziertem Ethylquecksilber eine Gefahr ausgeht,

sobald die Quecksilberkonzentration im Blut 1 µg/mL erreicht. Konzentrationen über 2 µg Hg/mL führen zum Tod [Magos 2001].

Weniger stabile quecksilberorganische Verbindungen wie die Alkoxyethylverbindungen werden im Organismus zu anorganischem Quecksilber metabolisiert und wirken daher weitgehend wie dieses [Maquard 1994].

An Tieren durchgeführte Studien zeigen, dass ihr Organismus fähig ist, Methylquecksilber in anorganisches Quecksilber umzuwandeln. Diese Demethylierung der organischen Spezies wurde zu 10 bis 90 % in Nierenzellen [Narahashi et al. 1991], zu 5 % im Gehirn [Chang 1996] und zu 30 % in Lebergewebe [Yasutake et al. 1997] beobachtet. Die Halbwertszeit von Quecksilber nach Verabreichung von Methyl- oder Ethylquecksilber beträgt im gesamten Körper der Ratte inklusive des Fells etwa 35, im Blut etwa 16 Tage [Magos 2001].

Bei oraler Aufnahme von Methylquecksilber(II) bildet sich mit der Salzsäure des Magens das lipophile Methylquecksilberchlorid, welches durch Resorption ins Blut gelangt. Dort sind Methylquecksilberverbindungen zu 90 % an die Erythrozyten gebunden [Mutter 2000]. Zehn Prozent der Gesamtkörperbelastung findet sich im Gehirn, weitere signifikante Anteile in der Leber, den Nieren und im Gewebe des Immunsystems. Die Ausscheidung findet zu neunzig Prozent über den Darm, zu zehn Prozent über die Niere statt. Ein sehr großer Teil des Quecksilbers wird somit über den Darm aus dem Blut entfernt. Allerdings wird der überwiegende Teil des über die Galle eliminierten Quecksilbers nach Umwandlung im Darm wieder in den unteren Darmabschnitten resorbiert. Mit dem Pfortaderblut gelangt es wieder in die Leber, die erneut versucht, die toxische Substanz zu entsorgen oder abzulagern (enterohepatischer Kreislauf).

Untersuchungen an Seesaiblingen (*Salvelinus alpinus*) [Ribeiro et al. 1999] mit radioaktiv markiertem Quecksilber zeigten, dass für den Transport von 95 % des  $\text{Hg}^{203}$  vom Darm ins Blut 27 Tage und in den Rest des Körpers 48 Tage benötigt wurden.

Ein weiterer wichtiger Punkt ergibt sich aus der Annahme, dass die Konzentration des Quecksilbers in der Niere oder im Gewebe des Menschen die Ausscheidungsrate beeinflusst. Durch eine höhere Quecksilberbelastung des menschlichen Organismus wird die kumulative Quecksilberausscheidung über den Harn erhöht. Cherian et al. postulierten bereits 1978 den Austausch von in der Niere gespeichertem durch neu zugeführtes Quecksilber vor der Ausscheidung über den Urin.

#### **1.4.1.4 Biologische Wirkung**

Im Folgenden wird die unterschiedliche biologische Wirkungsweise des Quecksilbers im menschlichen Körper, die auf der Störung zentraler Stoffwechselvorgänge beruht, dargestellt. Aufgrund der ausgeprägten Toxizität dieses Elementes soll dessen Wirkung mit den darin involvierten Enzymen und den betroffenen Zellen stellvertretend für die Wirkung anderer toxikologisch relevanter Metall(oid)e eingehend erörtert werden.

#### **Proteinbindung und Enzymblockade**

Ähnlich wie die anorganischen Spezies besitzen die quecksilberorganischen Verbindungen eine hohe Thiophilie.

Schwefel ist Bestandteil vieler Proteine, die wiederum aus verschiedenen Aminosäuren aufgebaut sind. Jedes Eiweiß hat eine ganz bestimmte Aminosäure-Zusammensetzung in festgelegter Reihenfolge. Die meisten Aminosäuren werden vom menschlichen Körper produziert, aber acht - bei Säuglingen zehn - müssen über die Nahrung aufgenommen werden (essentielle Aminosäuren). Die Aminosäuren Cystin, Cystein und Methionin, welche in den meisten Proteinen vorkommen, enthalten Schwefel in Form von Sulfhydryl- bzw. Disulfid-Gruppen. Quecksilber tritt mit diesen Thiol- und Disulfideinheiten in Wechselwirkung, blockiert die aktiven Zentren und führt auf diesem Wege zu einer Strukturveränderung der Proteine. Die meisten Enzyme benötigen für ihre Funktion so genannte Co-Faktoren, die beispielsweise aus einem Metall wie Selen oder Zink bestehen. Quecksilber ist in der Lage, diese Co-Faktoren von den Enzymen zu separieren und auf diesem Wege das Enzym funktionsunfähig zu machen. Zum Beispiel bilden Quecksilber und Selenit einen so stabilen Komplex, dass ein Ausscheiden aus dem Organismus fast unmöglich ist.

Durch die Bindung an Zellmembran-Kanalproteine hemmt Quecksilber wie auch Blei, Aluminium und Cadmium den Transport von Natrium, Kalium und Kalzium durch die Zellmembran, was ebenfalls zu einer Beeinträchtigung der Zellfunktion führt.

Ebenso wie die Thiophilie die Toxizität der Schwermetalle begründet, beruht der körpereigene Entgiftungsprozess auf dieser Eigenschaft. Es erfolgt eine Bindung an schwefelhaltige Proteine und eine fast vollständige Akkumulation in der Niere [Potgeter

1998]. Dieser natürliche Ausscheidungsmechanismus wird bei der medizinischen Behandlung von Schwermetallvergiftungen genutzt, indem schwefelhaltige Verbindungen wie Dimercaprol (*Abschnitt 1.5.1*) verabreicht werden.

### Schädigung von Nervenzellen

Durch die Anreicherung des Quecksilbers in den Nervenzellen ist das zentrale Nervensystem ein Zielorgan der toxischen Wirkung. Das Methylquecksilber in den Erythrozyten bildet mit Cysteinmolekülen einen Komplex ähnlich dem Aminosäure-Methionin-Komplex. Dieser Komplex kann nun in die inneren Zellen der Blut-Hirn-Barriere gelangen, das organische Quecksilber wird dort an Glutathion gebunden und gelangt über den Glutathion-Komplex in das Gehirn. Dort findet die Hydrolyse des Komplexes unter Bildung eines MeHg-Cystein-Komplexes statt. Dieser kann nun in die Nervenzellen penetrieren, wodurch das Quecksilber dort akkumulieren kann [Volz et al. 2001]. Die hochspezialisierten Nervenzellen bestehen prinzipiell aus einem Zellkörper mit der Erbinformation im Zellkern und dem so genannten Axon, einem Schlauch, der z. B. zu einer Muskelzelle führt. Dieses Axon kann über einen Meter lang sein und transportiert in seinen Strukturen Tubulin und Actin dort aufgenommene Stoffe wie Aminosäuren, Vitamine und Fette zum Nervenzellkörper. Andererseits gelangen die in der Nähe des Zellkerns produzierten Überträgerstoffe, so genannte Neurotransmitter, über das Tubulin an das Ende des Axons, um dort die Erregung zu übermitteln. Quecksilber lagert sich an diese Strukturen an und vermindert die Transportfähigkeit des Tubulins. In der Folge ist der Nerv gehindert, Nährsubstanzen aufzunehmen und Signale weiterzuleiten. Diese Einschränkung des Transportes kann letztlich auch zum Absterben der Nervenfasern führen. Eine weitere Schädigung des ZNS durch Quecksilber beruht auf dem Auslösen von Autoimmunprozessen, welche den Nerv umhüllende Myelinscheiden zerstören, sodass die nervale Stimulierung verzögert oder gar nicht mehr weitergeleitet werden kann. In-vitro-Untersuchungen von Limke und Atchison [2002] an neonatalen Kleinhirnzellen von Ratten zeigten, dass nach Methylquecksilberexposition die Permeabilität des Protoplasmas der Gehirnzellen so herabgesetzt war, dass ein Konzentrationsabfall von Calcium(II)ionen in den Zellen resultierte und der Zelltod eintrat. Eine Konzentrationserhöhung des Methylquecksilbers hatte einen Anstieg des Zellsterbens zur Folge.

Von Dore et al. [2001] wurden unterschiedliche nervale Verhaltensstörungen und Schädigungen an schwangeren Mäusen nach oraler Gabe von 4 bis 6 mg MeHg/kg Körpergewicht aufgezeigt.

Aufgrund einer Computersimulation wurde der Transfer von Methylquecksilber durch den Verzehr kontaminierten Fisches über die Muttermilch auf den Fötus bzw. der stillenden Mutter auf das Kind postuliert. Nach Anpassung der Ergebnisse mittels Modellparametern auf den Menschen wurden diese durch den Vergleich mit den Daten eines exponierten Mutter-Kind-Pärchens der Irakkatastrophe (*Abschnitt 1.4.1.5*) und experimentell ermittelten Daten stillender Nagetiere validiert [Byczkowski und Lipscomb 2001].

### Schädigung der DNS

Die Desoxyribo-Nuklein-Säure, in der die gesamten Informationen des Humanbauplanes und -stoffwechsels abgespeichert sind, ist aus den vier Basen Thymin, Adenin, Guanin und Cytosin zusammengesetzt. Diese enthalten Stickstoffatome, mit denen Quecksilber reagieren kann. Die Modifikation der DNA-Basen führt zu Strukturänderungen der Chromosomen, so genannten Fehlreplikationen, mit der Folge von Erbgutschäden. Ein weiterer Mechanismus bezüglich der karzinogenen Wirkung des Quecksilbers liegt in der Störung von DNA-Reparaturmechanismen durch Enzyminhibition. Auch über den Mechanismus der vermehrten Radikalbildung entstehen Schäden an der DNS, die wiederum zu Zelltod oder Krebserkrankungen führen können. Betti und Davini [1992] untersuchten die Genotoxizität, d. h. die mutagene und karnzinogene Wirkung von Methyl- und Dimethylquecksilber in menschlichen Lymphozyten mittels In-vitro-Chromosomen-Analyse. Die beiden organischen Spezies induzierten konzentrationsabhängig sowohl strukturelle Aberrationen (Chromosomenmutation) als auch numerische Aberrationen (Genommutation). Die 16fach stärkere Wirkung des Monomethylquecksilbers zeigt, dass beide Spezies die Zellaktivität in der gleichen Weise, jedoch in unterschiedlicher Stärke, beeinflussen.

Chromosomenmutationen, die auch als Chromosomenaberrationen bezeichnet werden, sind morphologische Veränderungen in der Chromosomenstruktur. Sie resultieren aus Brüchen und der Wiedervereinigung chromosomalen Materials und können für die

betroffene Zelle letale Folgen haben. Genommutationen stellen Veränderungen der Chromosomenzahl innerhalb des Genoms dar und entstehen bei Störungen während der Chromosomenverteilung.

Eine fragmentarische Schädigung der DNA an Hoden von Ratten wurde nach Exposition mit Methylquecksilberchlorid beobachtet [Homma-Takeda 2001].

Ehrenstein [1999] führte In-vitro-Untersuchungen zur Aufnahme und intrazellulären Verteilung von Methylquecksilberchlorid ( $\text{MeHgCl}$ ) an Ovarzellen von Hamstern durch. Die Aufnahme in die Zelle erfolgte rasch, nach 30-minütiger Exposition wurde in den Zellen die gleiche Konzentration gefunden wie nach 60 Minuten. Bei einer Konzentration von  $1 \times 10^{-5}$  M  $\text{MeHgCl}$  im Behandlungsmedium zeigten 35 % der Zellen Chromosomenaberrationen, wobei bei einigen Zellen eine Vielzahl von Aberrationen auftrat. Eine Erhöhung der  $\text{MeHgCl}$ -Konzentration wirkte stark zytotoxisch und führte zum Absterben aller Zellen. Analoge zytogenetische Untersuchungen wurden mit Dimethylquecksilber ( $\text{Me}_2\text{Hg}$ ) durchgeführt. Hierbei konnten Chromosomenaberrationen von durchschnittlich 2 % beobachtet werden. Nach Ehrenstein lässt dies nicht auf mangelnde Genotoxizität des  $\text{Me}_2\text{Hg}$  schließen, sondern ist wahrscheinlich auf die gewählten Versuchsbedingungen zurückzuführen. Zum einen verhindert die Hydrophobie des  $\text{Me}_2\text{Hg}$  im wässrigen Zellmedium dessen Transport zu den Zellen, zum anderen ermöglicht dessen leichte Flüchtigkeit ein Entweichen aus dem offenen Versuchssystem.

### **Verstärkte Radikalbildung**

Die Bildung freier Radikale ist eine weitere zellschädigende Eigenschaft des Quecksilbers. Als freie Radikale werden Moleküle bzw. ihre Bruchstücke und Atome bezeichnet, die ein ungepaartes Elektron besitzen. Auf Grund dieses instabilen Zustands sind sie sehr kurzlebig und besitzen die Tendenz, anderen Stoffen ein Elektron zu entreißen und sie somit zu zerstören.

Im menschlichen Organismus werden beispielsweise bei der Energieerzeugung in der Zelle oder im Immunsystem freie Radikale gebildet. Diese Radikale werden jedoch durch den Einsatz spezieller Enzyme unschädlich gemacht. Antioxidanzien schützen zusätzlich vor den aggressiven Radikalen. Antioxidative Wirkung haben Vitamine (A, C, E, Beta-

Carotin), Taurin, Coenzym Q<sub>10</sub>, Mineralien (Kupfer, Zink, Selen, Magnesium und Germanium) und manche Hormone.

Entsteht ein Überschuss an Radikalen im Organismus, kann dies irreversible Auswirkungen haben. Sie können menschliche Gewebe schädigen, spielen eine bedeutende Rolle bei Autoimmunkrankheiten und beschleunigen den Alterungsprozess des Menschen.

### **Schädigung des Immunsystems**

In der äußeren Zellhülle befinden sich viele verschiedene Funktionseweiße und Zucker-Eiweiß-Verbindungen als Andockstation für Hormone, Informationsübermittler ins Zellinnere und Erkennungsmarken für das Immunsystem. Auch hier kann eine Bindung des Quecksilbers an die Proteine erfolgen und ihre Hemmung bewirken, was ebenfalls zu Autoimmunkrankheiten führen kann. Das Immunsystem reagiert auf Quecksilber auf Grund dessen geringer Größe nur selten. Verbindet es sich jedoch mit Zellbestandteilen, z. B. den Proteinen, ist das Immunsystem in der Lage, die Verbindung als körperfremd zu erkennen und zu reagieren. Hierbei wird meist nicht gezielt das Quecksilber-Eiweiß-Molekül angegriffen, sondern die gesamte Zelle zerstört.



#### 1.4.1.5 Vergiftungsfälle

Die Stadt Minamata auf der Insel Kyushu in Japan hat 1956 durch eine Umweltkatastrophe industriellen Ursprungs tragische Berühmtheit erlangt. Der Verzehr mit Quecksilbersalzen kontaminierter Fische über Jahre hinweg führte bei den Bewohnern der Minamata-Bucht zu einer Massenvergiftung. Als Verursacher wurde später eine Kunststofffabrik, die quecksilberhaltige Abwässer in die Bucht einleitete, identifiziert. Über 100 Menschen starben, weit über 1000 erkrankten schwer [D'Itri 1990]. Symptome wie Seh-, Hör-, Sprach- und Gleichgewichtsstörungen, Empfindungsstörungen an den Extremitäten und Gedächtnisstörungen bis hin zu schweren Apathien wurden beobachtet. Bei der Analyse des Kopfhaares der Opfer wurden bis zu 259 µg Hg/g detektiert [Hirner et al. 2000a], die Werte unbelasteter Referenzpersonen liegen im Konzentrationsbereich von 1 bis 10 µg Hg/g. Bis die Einleitung der industriellen Abwässer 1968 legislativ verboten wurde [Harade 1978], waren insgesamt über 80 Tonnen Quecksilber und 60.000 Tonnen quecksilberhaltiger Schlämme in die Minamata-Bucht geflossen. In den kontaminierten Fischen wurden Quecksilbergehalte von bis zu 35 mg/kg, davon 0,7 mg/kg Methylquecksilber, gefunden. Die Analyse von Schlammproben ergab Werte zwischen 40 und 50 mg Hg/kg.

Ein weiterer Vorfall, der die Erkrankung von über 6500 Menschen zur Folge hatte, ereignete sich 1971/72 im Irak. Mit Methylquecksilberchlorid als Schädlingsbekämpfungsmittel behandeltes Getreide wurde in Folge einer Hungersnot zur Brotherstellung verwendet. Der Verzehr der kontaminierten Lebensmittel endete für über 400 Menschen tödlich.

Die extreme Toxizität organischer Quecksilberverbindungen soll anhand eines Vorfalls verdeutlicht werden, der sich 1996 ereignete. Der Forscherin K. Wetterhahn gelangten ein bis einige Tropfen, etwa 0,1 bis 0,5 mL, Dimethylquecksilber bei der Herstellung eines Hg-NMR-Standards auf ihren Latexhandschuh. Aufgrund der starken Lipophilie durchdrang das Dimethylquecksilber den Handschuh und wurde über die Haut resorbiert. Drei Monate später traten Symptome wie Übelkeit und Erbrechen, nach fünf Monaten Sprach- und Hörstörungen, Kribbeln in den Fingern, Schwierigkeiten bei der Koordination der Fortbewegung und eine Einengung des Gesichtsfeldes auf [Nierenberg et al. 1998].

Die Vollblutanalyse zu diesem Zeitpunkt ergab einen Quecksilbergesamtgehalt von 4 mg/L [Kulig 1998]. Dieser übersteigt den toxischen Schwellenwert von 50 µg/L um den Faktor 80. Die Quecksilberkonzentration im Blut eines unbelasteten Erwachsenen liegt unter 10 µg/L. Die Durchführung einer Chelattherapie mit DMSA (*Abschnitt 1.5.1*) bewirkte eine Ausscheidung von 400 mg Hg pro Tag im Harn. Der Durchschnittswert liegt bei einem unbelasteten Organismus unter 0,01 mg Hg pro Tag. Der neurologische Befund von K. Wetterhahn verschlechterte sich, sie reagierte nicht mehr auf äußere Reize, verfiel in einen komatösen Zustand, unterbrochen von Perioden starker Unruhe, und verstarb 298 Tage nach der Exposition.

Eine Analyse des 15 cm langen Kopfhaares ergab innerhalb eines 2 mm langen Segmentes einen sprunghaften Anstieg des Quecksilbergehaltes, der auf Ende August 1996 datiert werden konnte. Ende September wurde ein Maximum von 1100 ng/mg erreicht. Die Normalwerte liegen im Konzentrationsbereich einiger ng/mg. Der Quecksilbergehalt im Haar fiel dann mit einer Halbwertszeit von 75 Tagen, die in etwa der des Dimethylquecksilbers entspricht, exponentiell ab [Greim 1998]. Ausführliche neuropathologische Studien wurden von Musiek und Hanlon [1999] und Siegler et al. [1999] durchgeführt.

Über den Tod zweier Laborarbeiter, verursacht durch organische Quecksilberspezies, wurde bereits 1940 zur Zeit der ersten Synthesen von Dialkylquecksilberverbindungen berichtet [Hunter et al.].

1943 fanden zwei Sekretärinnen, die in einem Abstand von 4,5 m zu einem undichten Dimethylquecksilbercontainer nicht dokumentierter Größe arbeiteten, den Tod.

Ein Chemiker, der 1974 innerhalb von drei Monaten 6 g Dimethylquecksilber synthetisierte, starb einen Monat später. Diese und weitere Beispiele [Magos 1998b] illustrieren die lange Latenzzeit der resorbierten organischen Quecksilberverbindungen - in der Größenordnung von Monaten - zwischen der Exposition und dem Auftreten der ersten Symptome, im Gegensatz zu der Latenzzeit bei Vergiftungen mit oral zugeführten organischen Quecksilberspezies. Im Falle der Forscherin Wetterhahn betrug die Latenzzeit 154 Tage. Die Besonderheit dieser Vergiftung besteht darin, dass sich die Kontamination nicht unmittelbar bemerkbar macht, denn bei den ersten Anzeichen der Intoxikation hat die irreversible Schädigung des Gehirns bereits stattgefunden.

Neue Untersuchungen [Yasutake und Hirayama 2001] deuten darauf hin, dass in der Leber von Ratten bei Anwesenheit von bestimmten Enzymen Methylquecksilber zu anorganischem Quecksilber demethyliert wird. Allerdings erwies sich der quantitative Nachweis des anorganischen Quecksilbers in der Leber, bedingt durch den kontinuierlichen Transport des Quecksilbers in das Gewebe hinein und aus dem Gewebe heraus, als schwierig.

## **1.4.2            *Arsen***

### **1.4.2.1        *Expositionsquellen***

Arsen war bereits im Altertum gut bekannt. Hippokrates gebrauchte eine Arsensulfid-Paste zur Behandlung von Geschwüren. Die Kenntnis von der Giftwirkung des Arsens reicht nachweislich bis ins 2. Jahrhundert vor Christus zurück. "Arsenik" war das klassische Gift des Mittelalters. Auch die Borgias, ein reiches und nach Macht strebendes Adelsgeschlecht aus Katalanien, bedienten sich des Arsens für ihre niederen Absichten wie viele andere berühmte Giftmörder bis ins letzte Jahrhundert hinein. Die Verwendung von Arsen als Gift hat allerdings in der heutigen Zeit an Bedeutung verloren. Wurden Arsenverbindungen beispielsweise noch im ersten Weltkrieg in Form von Halogenarsinen als chemische Kampfstoffe, eingesetzt, so ist heute selbst ihre Verwendung als Schädlingsbekämpfungsmittel untersagt.

Bekannt sind heute die „Arsenik-Esser“ aus der Steiermark, die Arsen in Form des festen Arsentrioxids in steigenden Dosen von bis zu 400 mg pro Tag über einen Zeitraum von 30 bis 40 Jahren als Stimulans zu sich nehmen. Eine mögliche Erklärung für die gute Verträglichkeit des hohen Konsums ist die langsamere Resorption des Arsens aus der festen Phase gegenüber der aus einer Lösung oder der Gasphase. Es wird kontrovers diskutiert, ob es sich beim „As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>“ der „Arsenik-Esser“ tatsächlich um den toxischen Feststoff As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> handelt [Feldmann 2001].

Intoxikationsmöglichkeiten bestehen sowohl in arsenverarbeitenden Betrieben, wie bei Glas- und Pigmentfabrikationen, der Pharmazeutikaherstellung und der Pyrotechnik, als auch bei der Verhüttung von arsenhaltigen Erzen und der Brünierung von Metall-

oberflächen mit Arsentrichlorid. Heutzutage findet Arsen hauptsächlich Verwendung als III-V-Halbleiter, wie z. B. GaAs.

Weltweit ist die Hauptursache einer chronischen Arsenvergiftung der Gebrauch kontaminierten Trinkwassers [Gebel 2000]. Diese Kontamination findet ihren Ursprung in arsenreichen Erzen, z. B. dem Pyrit, aus denen Arsen in das Grund- und Oberflächenwasser diffundiert. Die Trinkwasserkonzentrationen können in manchen Regionen der Welt wie Bangladesch, Indien oder bestimmten Andengebieten Werte von über 1 mg/L erreichen. Eine weitere Expositionsquelle ist der Verzehr von Seefisch (im Gegensatz zu Süßwasserfisch). In Nordseeschollen wurden Arsengesamtgehalte zwischen 44 und 276 mg/kg ermittelt, wobei die Konzentrationen der Monomethylarson- und der Dimethylarsinsäure unter 1 % lagen [Lehmann und Ebeling 2001]. Das in Meeresorganismen akkumulierte Arsen liegt zu 99 % als organische Spezies vor: Zu nennen sind die Arsenozucker in Makroalgen [Raber et al. 2000] oder das Arsenobetain als Haupt- und das Arsenocholin als Nebenkomponekte in Fischen und Meeresfrüchten [Hanaoka et al. 2001]. Fischmehl wird als Futtermittel in der Tiermast eingesetzt, so dass die Aufnahme der üblicherweise in marinen Nahrungsmitteln enthaltenen Arsenspezies über tierische Lebensmittel wie Fleisch und Eier nicht ausgeschlossen werden kann. Darüber hinaus finden Phenylarsenverbindungen in den Vereinigten Staaten als Additive in Geflügel- und Schweinefutter zur Wachstumsförderung der Tiere Verwendung [Pergantis et al. 1997].

#### **1.4.2.2      *Inkorporation und toxikologische Wirkung***

Die Aufnahme von Arsen und seinen Verbindungen erfolgt außer durch Ingestion über die Atemwege in Form von Staub oder Dampf durch Resorption über die Haut. Arsen ist in seinen Verbindungen drei- oder fünfwertig, wobei die dreiwertigen Verbindungen toxischer als die fünfwertigen sind [Crompton 1998]. Arsenat ( $\text{As}^{\text{V}}$ ) wird jedoch relativ schnell chemisch im Blut und enzymatisch in der Leber [Chang 1996] zu Arsenit ( $\text{As}^{\text{III}}$ ) reduziert.  $\text{As}^{\text{III}}$  wird dann durch einen nicht enzymatisch gesteuerten Mechanismus zu Monomethylarsonsäure ( $\text{MMA}^{\text{V}}$ ) methyliert. Diese wird im Weiteren enzymatisch zu Dimethylarsinsäure ( $\text{DMA}^{\text{V}}$ ) umgewandelt. Eine Zwischenstufe bei der Methylierung von  $\text{MMA}^{\text{V}}$  zu  $\text{DMA}^{\text{V}}$  ist die  $\text{MMA}^{\text{III}}$ -Spezies. Sie wurde in Leberzellen der Ratte [Lin et al.

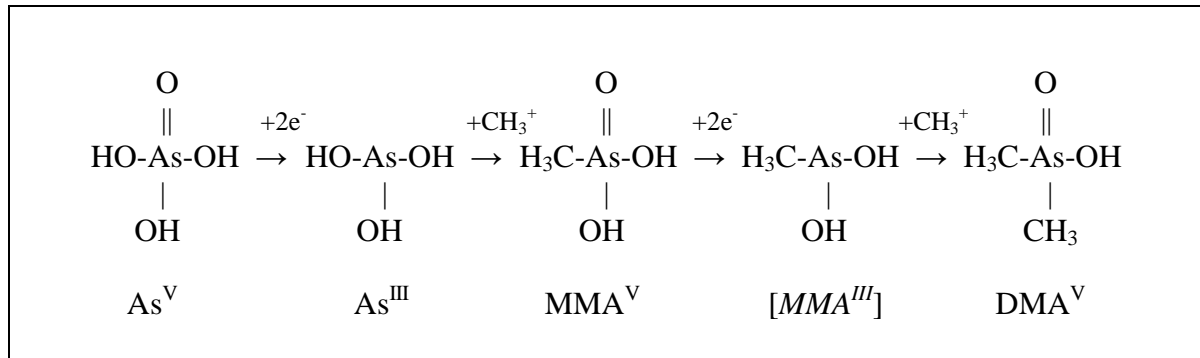
1999] und im menschlichen Gallengewebe nachgewiesen [Petrick et al. 2000]. Le et al. [2000a] fanden nach oraler Gabe von DMPS (*Abschnitt 1.5.1*) trivalentes MMA in 42 % von Humanurinproben. Für DMPS wird eine unterstützende Funktion bei der Freisetzung des im Körper gebildeten MMA<sup>III</sup> angenommen. Gleichzeitig konnte eine Zunahme der MMA<sup>V</sup>- und eine Abnahme der DMA<sup>V</sup>-Konzentration bei Detektion von MMA<sup>III</sup> beobachtet werden. Dieser Studie folgte die Identifizierung von MMA<sup>III</sup> im Harn chronisch arsenexponierter Personen ohne vorherige Verabreichung von DMPS [Aposhian et al. 2000].

Gong et al. [2001] beobachtete sehr geringe Stabilitäten für MMA<sup>III</sup> und DMA<sup>III</sup> in menschlichem Urin, bei 25 °C erfolgte eine quantitative Oxidation zu MMA<sup>V</sup> und DMA<sup>V</sup> innerhalb von 3 Tagen bzw. 90 Minuten.

Ferner wird eine Reduktion der DMA<sup>V</sup>-Spezies zu DMA<sup>III</sup>-Spezies im menschlichen Organismus diskutiert. Analoge Untersuchungen zeigten eine quantitative Oxidation der DMA<sup>III</sup>-Spezies innerhalb von 90 Minuten. Diese noch geringere Stabilität der trivalenten DMA-Spezies gegenüber der trivalenten MMA-Spezies bedingt den viel schwierigeren Nachweis des DMA<sup>III</sup> gegenüber MMA<sup>III</sup> in Urinproben [Gong 2001]. Le et al. [2000b] wiesen in 51 von 164 untersuchten unbelasteten Urinen MMA<sup>III</sup> und in 2 Proben DMA<sup>III</sup> nach. Im Gegensatz dazu konnten Mandal et al. [2001] bei der Analyse von Urinen der mit arsenhaltigem Trinkwasser exponierten Bevölkerung Indiens in 48 % der Proben MMA<sup>III</sup> und in 72 % der Proben DMA<sup>III</sup> nachweisen.

Styblo et al. [1995] verglichen in vitro an Zellen der Rattenleber die Methylierungsraten des Arsens im drei- und fünfwertigen Valenzzustand und zeigten, dass das trivalente Arsen bevorzugtes Edukt für die Methylierungsreaktion ist.

Eine schematische Darstellung von Reduktion und oxidativer Arsenmethylierung im Organismus zeigt Abbildung 3.



**Abbildung 3** Schematische Darstellung der Arsenmethylierung

In Studien [Healy 1997], die an der Leber von Schweinen durchgeführt wurden, wurde eine Methyltransferase isoliert, welche für die Übertragung einer aktiven Methylgruppe auf Arsenit und MMA zuständig ist. Weiterhin wurde gezeigt, dass die Fähigkeit, Arsen zu methylieren, mit dem Vorhandensein der Methyltransferase korreliert, wobei jedoch ein ausgeprägter Polymorphismus sowohl innerhalb derselben Tierspezies wie auch bei den verschiedenen Arten besteht [Sur et al. 2002]; so sind beispielsweise Schimpansen nicht fähig, Arsenspezies zu methylieren [Vahter 1995].

Im menschlichen Organismus findet die Übertragung der Methylgruppe hauptsächlich durch S-Adenosylmethionin (SAM) statt [Cullen et al. 1995]. Studien an Mäusen und Hasen zeigten eine proportionale Verringerung der Methylierungsrate des Arsens durch chemische Hemmung von SAM [Vahter 2001]. Das Thiolgruppen enthaltende Tripeptid Glutathion (GSH) ist ein essentieller Co-Faktor der Methylübertragung [Buchet 1988]. Yoshida et al. [2001] zeigten, dass sich durch Komplexierung von GSH in der Leber von Ratten die Methylierung in diesem Organ hemmen und die Ausscheidung von MMA und DMA über den Urin vermindern lässt.

Noch nicht hinreichend untersucht sind die weitere Methylierung von DMA, wahrscheinlich von DMA<sup>III</sup>, im menschlichen Organismus zu Trimethylarsenoxid (TMAO) und die eventuell folgende Reduktion zu Trimethylarsen (TMA), analog zu dem von Challenger [1945] für die Bildung von TMA aus Arsenit durch den Schimmelpilz *Scopulariopsis brevicaulis* vorgeschlagenen Mechanismus. TMAO wurde bisher nur nach Fischverzehr im Humanurin nachgewiesen [Larsen et al. 1993]. Eine endogene Bildung von TMAO bei umweltbedingten Expositionen wird jedoch diskutiert [Sur et al. 2002]. In Urin und Faeces von Ratten wurde TMAO nach oraler Gabe von DMA nachgewiesen [Chen et al 1996, Yoshida et al. 2001].

Die Hauptausscheidung des Arsens findet über die Niere statt. Zwischen 45 und 85 % des aufgenommenen Arsens werden innerhalb von 1 bis 3 Tagen über den Urin eliminiert, dabei beträgt der Anteil anorganischen Arsens zwischen 10 bis 30 %, der von MMA 10 bis 20 % und der von DMA 60 bis 80 %. Studien über das Verhalten von NaAsO<sub>2</sub> (Sodiumarsenat), MMA und DMA nach oraler Aufnahme im Organismus wurden von Buchet und Lauwerys [1994] durchgeführt. Nach vier Tagen wurden insgesamt 75 % der zugeführten DMA im Urin detektiert. Es ergab sich kein Hinweis auf die Bildung der trimethylierten Spezies oder einer Demethylierung zu MMA. MMA wurde zu 13 % in DMA transformiert, nach vier Tagen konnten 78 % der zugeführten Menge im Urin detektiert werden. Im Falle des anorganischen Arsens entsprach die nachgewiesene Menge einem Anteil von 45 %, wobei jedoch nur 11,3 % in Form anorganischen Arsens ausgeschieden wurden. 9,6 % wurden als DMA und 24,1 % als MMA eliminiert.

Die Methylierung der anorganischen Spezies im menschlichen Organismus wurde lange Zeit als Detoxifikationsprozess bezeichnet [Sakurai 1998]. Anhand von LD<sub>50</sub>-Werten bei Ratten zeigte Aposhian [1989], dass DMA eine 60fach geringere Toxizität aufweist (LD<sub>50</sub> = 2600 mg/kg) als Arsenit (LD<sub>50</sub> = 41 mg/kg). Dies kann auch durch die LD<sub>50</sub>-Werte für Mäuse bei oraler Arsenszufuhr belegt werden: Sie betragen für As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 34,5 mg/kg, für MMA 1800 mg/kg, für DMA 1200 mg/kg, für AB (Arsenobetain) >10000 mg/kg und für AC (Arsenocholin) 6500 mg/kg [Zhang et al. 1996].

Dennoch wird in einigen Arbeiten eine im Vergleich zu den anorganischen Verbindungen höhere Toxizität der methylierten Arsenspezies, im Besonderen im trivalenten Zustand, diskutiert [Le et al. 2000a]. Petrick et al. [2001] bestimmten über Bauchfellinjektion bei

Hamstern die LD<sub>50</sub>-Werte für Arsenit und MMA<sup>III</sup> zu 112 und 29,3 µmol/kg Körpergewicht und bewiesen damit eine im Vergleich zu anorganischem Arsenit höhere Toxizität der MMA<sup>III</sup>.

Weitere Untersuchungen belegen die zyto- und genotoxische Wirkung von MMA und DMA in vivo in Ratten [Samuel et al. 2000] und Mäusen [Moore et al. 1997] und in vitro im menschlichen Organismus [Yamanaka 1995]. Mass und Wang [1997] postulierten auf Grund von Untersuchungen an menschlichen Zellen der Lunge, dass methylierte Arsenverbindungen ein karzinogenes Risiko für den menschlichen Organismus darstellen. Allein die Tatsache, dass die Methylierung von Arsen zur Karzinogenese beiträgt, führt dazu, diesen Prozess nicht länger als protektiv anzusehen.

Die Annahmen, dass das hauptsächlich durch den Verzehr von Fisch aufgenommene Arsenobetain auf Grund seiner hohen Stabilität und guten Wasserlöslichkeit keinen Einfluss auf die Zelle und deren Bestandteile ausübt, vom Gastrointestinaltrakt gut absorbiert wird und ohne Metabolisierung aus dem Organismus ausgeschieden wird, wurden mehrfach bestätigt [Yamauchi et al. 1986, Vather 1988, Zhang et al. 1996, Ebdon et al. 1999]. Lehmann und Ebeling [2001] zeigten jedoch anhand von Blut- und Harnanalysen nach dem Verzehr einer einmaligen Fischmahlzeit, dass Arsenobetain mit einer Halbwertszeit von 63 Stunden und somit einer Verweildauer von ca. 16 Tagen länger im Organismus bleibt, als bisher angenommen wurde.

Goessler et al. [1997] diskutierten die Metabolisierung von Arsenobetain im menschlichen Körper kontrovers. Nach einer inhalativen Trimethylarsenexposition konnte im Urin eine um den Faktor 33 höhere Arsenobetainkonzentration nachgewiesen werden, wobei andere Arsenobetainquellen ausgeschlossen werden konnten.

Arsenocholin wird nach Palacios et al. [1997] im Organismus zu Arsenobetain oxidiert. Dies berichten auch Cullen und Reimer [1989], die den Abbaumechanismus von Arsenozuckern untersuchten und als Zwischenprodukt Arsenocholin, welches durch Oxidation in Arsenobetain umgewandelt wird, postulierten.

Als Endprodukte der durch Verzehr von Seetang bzw. Muscheln und Algen in den Organismus von Schafen [Feldmann et al. 2000] bzw. Menschen [Le und Ma 1998] aufgenommenen Arsenozucker wird hier DMA genannt, ferner mit einem Anteil von fünf Prozent bisher nicht identifizierte weitere Spezies.



Arsen(III)oxid ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ) und die Arsenhalogenide, die gut resorbierbar sind, entfalten über blockierende Reaktionen mit Thiolgruppen lebenswichtiger, u. a. die intrazelluläre Oxidation katalysierender Enzyme eine starke toxikologische Wirkung durch Störung des weiterführenden Stoffwechsels. Das trivalente anorganische Arsen zeigte dabei eine höhere Affinität zu den Thiolgruppen der Proteine als die pentavalente Form [Apostoli 1999]. Arsenverbindungen wirken primär auf die Blutkapillaren, sie sind knochenmarkschädigend und genotoxisch [Rudel et al. 1996]. Bei chronischer Einwirkung auf die Haut entwickelt sich Hautkrebs, ebenso werden den genannten Arsenverbindungen Leberkrebs und Karzinome der Atemwege ursächlich zugeschrieben [Michaux 2000]. Diese Vorgänge basieren wahrscheinlich auf der Fähigkeit des Arsens, sich im trivalenten Oxidationszustand an benachbarte Dithiole in Proteinen zu binden oder zwei Proteine über Thiole zu verbrücken. Bedingt durch diese Elektrophilie der Arsenverbindungen werden verschiedene Schritte der DNA-Reparatur inhibiert.

Neben Arsentrioxid ist noch Arsenwasserstoff zu nennen. Arsenwasserstoff entfaltet seine toxische Wirkung in Erythrozyten durch Eiweißdenaturierung mit Katalysehemmung und Hämolyse. In der Folge können die anfallenden Hämoglobinemengen nicht mehr verarbeitet werden, was zu einer Leber-, Nieren- und Milzveränderung führt [Pfeffer 1987].

Arsen und seine Verbindungen kumulieren nur zu einem geringen Teil in Leber, Niere, Knochen, Nägeln, Haut und Haar, der jedoch ohne medikamentösen Einsatz nur sehr langsam aus dem Körper eliminiert wird [Merck 1998].

Als letale Dosis bei einmaliger Exposition gelten ca. 100 mg Arsen. Im Falle von Arsenwasserstoff können bereits wenige Atemzüge zum Tode führen [Römp 1995], der MAK-Wert beträgt  $0,05 \text{ g/m}^3$ . Chronische Vergiftungen durch Arsen oder seine Verbindungen werden ab einer resorbierten Menge von 1,2 mg Arsen pro Tag beobachtet.

In früheren Jahrhunderten sind viele Menschen an einer Arsenvergiftung erkrankt. Eine mögliche Ursache war das Kupferhydrogenarsenit, das in den Farbpigmenten *Scheeles Grün* und *Schweinfurt Grün*, welche für die Färbung von Tapeten verwendet wurden, enthalten ist. Vergiftungen resultierten durch die Schimmelpilzbildung auf feuchten Tapeten. Die Schimmelpilze verursachten die Bildung des toxischen, nach seinem Entdecker benannten *Gosio-Gases*, das 1932 als Trimethylarsen identifiziert wurde [Challenger 1945].

### 1.4.3 Zinn

#### 1.4.3.1 Expositionsquellen

Das bekannteste Produkt aus Zinn ist Weißblech. Das Innere von Konservendosen besteht aus Zinnblech; kommt dieses mit Sauerstoff in Berührung, kann es in Lösung gehen und in den Inhalt der Konservendose penetrieren. Die resultierende Belastung der Nahrung wird mit bis zu 500 mg Sn/kg angegeben [Bulten und Meinema 1991]. Zinn ist auch Bestandteil vieler Legierungen und findet in der Glas-, Keramik- und Kunststoffindustrie Verwendung. Obwohl der Einsatz von Organozinnverbindungen als *Antifoulingmittel* schon seit 1989 für Schiffe unter 25 Meter Länge untersagt ist, befinden sich organische Zinnverbindungen in den Sedimenten des Meeresbodens, da sie bei allen größeren Schiffen bis Januar 2003 weiterhin zum Schutz gegen den Bewuchs mit Algen und Muscheln verwendet werden dürfen. Zwar werden in Deutschland seit Ende des letzten Jahrhunderts Tributylzinnoxid und Tributylzinnester in geprüften Holzschutzmitteln nicht mehr eingesetzt, in anderen Bereichen wie der Textil- und Papierindustrie (Schleimbekämpfung) werden Triorganozinnverbindungen aber weiterhin als Biozide gegen Milben, Pilze, Bakterien und Algen verwendet. Nach neueren Untersuchungen wird Tributylzinn Bekleidungstextilien auf Grund seiner antibakteriellen Wirkung zugesetzt, wobei Gehalte von bis zu 99 µg/kg Textilien nachgewiesen wurden.

Die Hauptbelastung des Menschen mit Zinn erfolgt jedoch über die Nahrungsaufnahme. Durch den weit verbreiteten Einsatz organischer Zinnverbindungen in der Umwelt und im Meer kommt es zu einer Akkumulation in marinen Lebewesen. In Krebsen, Muscheln, Meeresfrüchten und –schildkröten wurden Tributylzinngelalte im µg/kg-Bereich nachgewiesen [Iwata et al. 1997].

Für den Menschen wird eine Inkorporation von täglich 0,2 bis 1 mg Zinn über die Aufnahme mit der Nahrung angenommen.

#### 1.4.3.2 Inkorporation und toxikologische Wirkung

Zinn ist ein für Mensch und Tier essentielles Spurenelement. Es kann in den Oxidationsstufen +2 und +4 auftreten, wobei die organischen Zinnverbindungen nahezu alle tetravalent sind. Da das Zinn an sich nicht toxisch ist, hängt die biologische Wirkung der Zinnverbindungen von den Bindungsverhältnissen und -liganden ab.

Die Humantoxizität anorganischer Zinnverbindungen ist viel geringer als die von Blei- oder Arsensalzen. Sie sind wasserlöslich und werden vom Organismus kaum resorbiert. Der überwiegende Teil dieser Verbindungen wird ohne Metabolisierung direkt über den Stuhl ausgeschieden, während der resorbierte Anteil den Körper durch Ausscheidung im Harn verlässt. Im Gegensatz dazu zeigen organische Zinnverbindungen eine hohe Fettlöslichkeit und Stabilität in biologischen Flüssigkeiten, wodurch eine Penetration der Blut-Hirn-Barriere und eine Anreicherung im zentralen Nervensystem möglich ist.

Die Toxizität organischer Zinnverbindungen bei Säugetieren hängt nach Snoeij und Penninks [1987] von der Anzahl der Kohlenstoffatome der Seitenkette ab. Demnach geht eine Zunahme der Kettenlänge mit einer verminderten Toxizität bei Säugetieren einher, ebenso nimmt die Toxizität im Allgemeinen von tri- zu monoorganischen Zinnverbindungen ab. Dies bestätigten Kobayashi et al. [1996] und Okada et al. [2000] bei Experimenten an Leber- und Gehirnzellen von Nagetieren, bei denen LD<sub>50</sub>-Werte für Trimethylzinnchlorid und Tributylzinnchlorid von 8,5 mg/kg bzw. 122 mg/kg ermittelt wurden.

Im Gegensatz dazu wiesen Lascourreges et al. [2000], in Studien über die toxische Wirkung von organischen Zinnverbindungen auf Bakterien des Genus *Desulfovibrio* den größten Effekt für die monosubstituierten Zinnverbindungen nach.

Tetraalkylzinnverbindungen können im Organismus zu Trialkylzinnverbindungen desalkyliert werden. Dieser Vorgang läuft mit zunehmender Kettenlänge langsamer ab. In Tieren wurde der Abbau von hydrophoben Triorganozinnverbindungen durch Desalkylierung zu di- und monoorganischen Zinnverbindungen [Dyne et al. 1991] und schließlich zu anorganischem Zinn beobachtet [Snoeij und Penninks 1987].

Gui-Bin et al. [2000] deuteten dahingegen die In-vivo-Methylierung des Dimethylzinns zur trimethylierten Form an.

In einigen Studien wurde anhand von Tierversuchen die toxische Wirkung organischer Zinnverbindungen auf die Zellen des Immunsystems nachgewiesen. Während Trimethyl- und Triethylzinn vor allem als neurotoxisch angesehen werden, wurde für Tributyl- und Triphenylzinn eine immunotoxische Wirkung postuliert. Als Zeichen der neurotoxischen Wirkung wurden zerebrale Ödeme und eine Schädigung von Nervenzellen in bestimmten Gehirnregionen beobachtet.

Bei einer akuten Vergiftung durch Zinnverbindungen kommt es je nach Art der Verbindung zu Symptomen wie Übelkeit, Erbrechen und Durchfall, sowie zu Kopfschmerzen, Schlaf-, Ruhe- und Motivationslosigkeit [Ross et al. 1981].

Im Jahre 1999 erlitten über 1000 Chinesen durch die Verwendung von mit organischen Zinnverbindungen kontaminiertem Schmalz als Bratfett Vergiftungen, wobei drei Menschen zu Tode kamen [Gui-bin et al. 2000].

Massive Haut- und Schleimhautschäden bis hin zum Absterben des Gewebes, (Nekrosen) werden durch kurzketige Dialkyl- und besonders Trialkylzinnverbindungen verursacht.

Bei einer chronischen Vergiftung können die Symptome in abgeschwächter, aber anhaltender Form auftreten.

Ein 23-jähriger Chemiestudent wurde während Laborarbeiten gegenüber organozinnhaltigen Dämpfen exponiert. Unmittelbar nach dem Vorfall wurden keine offensichtlichen neurologischen Defizite festgestellt. Drei Tage später stellte sich jedoch Orientierungslosigkeit ein. In den dem Unfall folgenden zwei Monaten traten Symptome wie Seh- und Schlafstörungen, Geschmacksirritation und zeitweiliger Gedächtnisverlust auf. Eine anfängliche Urinanalyse ergab Trimethylzinnskonzentrationen von 52 µg/kg. Zwei Wochen nach der Intoxikation belief sich der Gehalt auf 13 µg/kg und nach fünf Wochen konnten im Urin noch 7,4 µg/kg detektiert werden. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieses Falles sieben Jahre später war das Erinnerungsvermögen des Mannes weiterhin beeinträchtigt, er war desorientiert und litt unter Depressionen [Robert et al. 1993].

#### **1.4.4    Blei**

##### **1.4.4.1    Expositionsquellen**

Blei gelangte in der Vergangenheit hauptsächlich luftbelastend mit den Kraftfahrzeugabgasen, durch Abfallverbrennung und andere Feuerungsanlagen sowie durch Emissionen bleiverarbeitender Betriebe, z. B. bei der Akkumulatorenherstellung, in die Umwelt. Neben diesen Anwendungen wird Blei bei der Bildschirmherstellung und im Strahlenschutz verwendet. Schwere Bodenbelastungen entstehen zum Beispiel bei Korrosionsschutzmaßnahmen an Stahlbauten, wenn durch das Sandstrahlen große Mengen Bleifarben (Mennige) in die Umwelt gelangen. In den vergangenen Jahren ist die Umweltbelastung durch Blei jedoch stark zurückgegangen, eine deutliche Entlastung wurde durch die Verwendung unverbleiter Kraftstoffe sowie den Ersatz von Bleimennige durch blei- und chromatarne Korrosionsschutzstoffe erzielt.

##### **1.4.4.2    Inkorporation und toxikologische Wirkung**

Bei den anorganischen Blei(II)verbindungen spielt im Gegensatz zur inhalativen Aufnahme die Hautresorption eine untergeordnete Rolle.

Die in Form von Stäuben oder Dämpfen als lungengängige Aerosole inhalierten Verbindungen werden zu 50 bis 80 % resorbiert. Das über die Lunge und den Magen-Darm-Trakt aufgenommene Blei wird im Blutkreislauf zu etwa 95 % an die Erythrozytenmembran gebunden und auf diesem Wege weiterverteilt. Das resorbierte Blei wird zu 80 % über den Urin und nur zu einem geringen Teil über den Darm ausgeschieden. Bei langfristigen Expositionen kommt den Knochen als Depot-Kompartiment die größte Bedeutung zu. Etwa 90 % der im Körper vorhandenen Bleimenge befindet sich in den Knochen, bei Kindern werden etwa 60 bis 70 % in den Knochen eingelagert. Die biologische Halbwertszeit in den Knochen beträgt ca. 10 Jahre. Die in den Knochen deponierte Bleimenge nimmt mit dem Alter zu und beträgt im Alter von 30 bis 40 Jahren (Plateauphase) bei beruflich nicht belasteten Personen ca. 80 bis 200 mg. Die bevorzugte Ablagerung des Bleis im Knochengewebe beruht auf dem Austausch der Blei(II)- gegen die Calcium(II)ionen des Skelettsystems. Eine Remobilisierung des in den Knochen deponierten Bleis wird durch Knochenabbauprozesse oder veränderte Stoffwechselbe-

dingungen, z. B. bei Krankheiten, gefördert. Calcium- und Vitamin D-Mangel erhöhen die Bleiresorption im Organismus.

Die toxikologische Wirkung der anorganischen Bleiverbindungen basiert auf ihrer Fähigkeit, sowohl die Plazenta-Schranke als auch in geringem Maße, besonders bei Kindern, die Blut-Hirn-Barriere passieren zu können. Während im fetalen Blut nahezu die gleiche Bleikonzentration wie im mütterlichen Blut vorliegt und in der Muttermilch ebenfalls geringe Mengen an Blei nachgewiesen wurden, scheint eine Akkumulation im Gehirn nicht stattzufinden. Wahrscheinlich besteht ein Zusammenhang zwischen vorgeburtlicher und/oder frühkindlicher Bleibelastung und Intelligenzminderung, Minderung der Lernleistung, Störungen der Bewegungsabläufe und Verhaltensstörungen (Hyperaktivität). Als Folge der globalen Umweltbelastung sind Bleiverbindungen ein allgegenwärtiger Bestandteil aller pflanzlichen und tierischen Nahrungs- und Futtermittel. Anzeichen einer Bleivergiftung sind vor allem abdominelle Koliken, aber auch ein Bleisaum an der Zahnfleischgrenze der Zähne, ein bläulich schwarzer Niederschlag von Bleisulfid, oder das so genannte Bleikolorit, eine grau-gelbe Verfärbung der Gesichtshaut. Bereits bei einer Blutbleikonzentration von 500 bis 600 µg/L treten depressive und feindselige Verhaltensweisen sowie Störungen des Allgemeinbefindens auf [Förstner 1993]. Der BAT-Wert liegt für Männer bei 400 µg/L Blut und für Frauen bei 300 µg/L.

Im Gegensatz zur Aufnahme der anorganischen Bleiverbindungen, spielt bei der Aufnahme der organischen, bedingt durch deren Lipophilie, nicht nur die Inhalation, sondern auch die Hautresorption eine wesentliche Rolle. Die aufgenommenen Tetramethyl- und Tetraethylspezies werden nach der Verteilung über den Blutkreislauf in der Leber durch oxidative Spaltung zu den eigentlich toxischen Trialkylverbindungen metabolisiert. So wurde nach einer Tetramethylbleiexposition Trimethylblei im menschlichen Urin nachgewiesen [Dunemann et al. 1999].

Die Symptome bei einer Intoxikation mit organischen Bleiverbindungen betreffen überwiegend das zentrale Nervensystem. Bei fortschreitender Vergiftung kann es innerhalb einiger Stunden zu einem letalen Ausgang infolge von Hirnödemen, die ein Kreislaufversagen hervorrufen, kommen.

### 1.4.5 Antimon und Bismut

Antimon fand als härtendes Legierungsmetall bereits in frühen Bronzen Verwendung. In der Antike bediente man sich des Antimonsulfids als Schönheits- und Heilmittel, die Römer stellten unter Verwendung von Antimon Spiegel her. Ferner wurde es auf Grund der leichten Ausdehnung beim Erstarren als Letternmetall eingesetzt. Heute liegt wie beim Arsen das Haupteinsatzgebiet bei den III-V-Halbleitern. Außerdem wird Antimon in verschiedenen Legierungen bzw. als Legierungszusatz verwendet: Britannia-Metall beispielsweise besteht aus Zinn mit 7 bis 20 % Antimon und ist hart und polierbar. Babbitt-Metall ist eine Zn-Sb-Cu-Legierung, die als Lagermetall Verwendung findet. Antimon wird als Zusatz zu Stählen für Schnelldrehstähle eingesetzt und findet bei der Herstellung von Akkumulatoren Verwendung.

Antimon ist ein nicht essentielles toxisches Spurenelement, dessen Auftreten in der Umwelt häufiger auf anthropogene als auf natürliche Quellen zurückzuführen ist.

Antimonverbindungen gleichen bezüglich ihrer Toxizität in etwa denen des Arsens. Die dreiwertigen Antimonspezies weisen eine 10mal höhere akute Toxizität auf als die pentavalenten Spezies.  $\text{Sb}^{\text{III}}$  zeigt im Gegensatz zu  $\text{Sb}^{\text{V}}$  eine hohe Affinität zu Erythrozyten und Sulfhydrylgruppen der Zellen [Krachler et al. 2001] und führt durch irreversible Bindung an thiolhaltige Enzyme zu deren Blockierung.

Allerdings treten Antimonvergiftungen viel seltener auf als Arsenvergiftungen, da die Antimonspezies die Magen- und Darmwände nicht so leicht durchdringen können wie die Arsenspezies.

Über den Einfluss des Antimons auf die Gesundheit des Menschen ist bis dato wenig bekannt.

Eine Methylierung des Antimons im menschlichen Organismus analog zu der des Arsens wird kontrovers diskutiert. Der Mechanismus der genotoxischen Wirkung des Antimons ist weitgehend unaufgeklärt.

Gebel [1997] beobachtete bei Nagetieren nur eine geringfügige Reduktion der inkorporierten fünfwertigen Antimonverbindungen zu den dreiwertigen Spezies.

Krachler und Emons [2001] interpretierten die Metabolisierung des  $\text{Sb}^{\text{III}}$  im Organismus zu  $\text{Sb}^{\text{V}}$  und Trimethylantimondichlorid als Entgiftung des toxischeren  $\text{Sb}^{\text{III}}$ .

Bailly et al. [1991] zeigten in Leberzellen von Ratten in vitro, dass Antimontrichlorid die Methylierung von Arsen im Stoffwechsel vollständig hemmt.

Ferner belegen Untersuchungen [Lee 1985, Gurnani 1992, Kuroda 1999] sowohl in vitro als auch in vivo dass Antimonverbindungen zwar eine genotoxische Aktivität, jedoch keine direkte mutagene Wirkung aufweisen.

Für das sehr toxische flüchtige Antimontrihydrid, welches eine Schädigung des zentralen Nervensystems verursacht, ist ein MAK-Wert von  $0,5 \text{ mg/m}^3$  festgelegt. Eine Inhalation von Antimontrioxid führte in Experimenten mit Ratten zur Bildung von Lungentumoren [Maeda 1994].

Bismut wird zur Herstellung einer Vielzahl niedrig schmelzender Legierungen, bei der Stahlproduktion und der Versilberung von Spiegeln verwendet. Weiteren Einsatz findet Bismut in industriellen Prozessen und Produkten, wie der Herstellung und Wiederaufbereitung von Urankernbrennstäben, in Halbleitern, in Kühlaggregaten und in Katalysatoren. Bismutoxychlorid und andere Bismutsalze werden bei der Herstellung einer Großzahl kosmetischer Präparate wie Creme, Haarfarbe, Puder, Shampoo und Wimperntusche verwendet.

Bei oraler Aufnahme von Bismutsalzen entstehen durch die Magensäure unlösliche Salzkomplexe, die vom Gastrointestinaltrakt kaum resorbiert und über den Darm ausgeschieden werden. Einige wasserlösliche Bismutverbindungen können akute Vergiftungen verursachen. Sie werden leicht resorbiert und größtenteils über den Urin ausgeschieden.

Intoxikationen durch Bismutverbindungen sind besonders während medizinischer Langzeitbehandlungen aufgetreten. 1974 wurden einige hundert Fälle von zerebralen Erkrankungen während der Behandlung von Patienten mit Bismutpräparaten bekannt, von denen manche tödlich endeten [Burns 1994]. Die orale Aufnahme von  $221 \text{ mg/kg}$  führt beim Menschen zum Tod [Hirner et al. 2000a].

Es gibt bisher keine Hinweise auf Karzinogenität, Mutagenität und Teratogenität von Bismutverbindungen.



#### 1.4.7 Selen

Ein wichtiges Anwendungsgebiet für elementares Selen liegt in der Xerographie. In der Elektronik wird es für die Herstellung von Gleichrichtern und Photozellen, in der Metallindustrie als Legierungsbestandteil von Automatenstählen und Kupferlegierungen eingesetzt. Selendioxid und die Selenite finden bei der Glasherstellung sowohl zur Entfärbung als auch zur Rot- und Gelbfärbung des Glases Verwendung. Selsulfid wird in Haarwaschmitteln zur Eindämmung von Kopfschuppen eingesetzt.

Es ist für den menschlichen Organismus als Spurenelement essentiell und als Bestandteil von Enzymen wichtig für die Funktion der Zellen. Beispielsweise ist Selen Teil des Glutathionperoxidase-Enzyms, des Schlüsselenzyms für die Elimination freier Radikale, welches sich in den Erythrozyten befindet und eines der stärksten körpereigenen Antioxidanzien ist. Eine tägliche Zufuhr von 100 bis 200 µg Selen in den Organismus verhindert die Ausbildung genetischer Defekte und die Entwicklung von Krebszellen. Die eigentliche Struktur, in der das als Krebschutz fungierende Selen, vorliegt wurde bisher jedoch noch nicht identifiziert [El-Bayoumy 2001, Mahapatra 2001]. Lobinski et al. [2000] bezeichnen die anorganischen Selsalze, Selenaminosäuren und einige synthetischen Selenverbindungen als chemopräventive Agenzien, ebenso wird einer Kombination von Selen und Vitamin E eine protektive Wirkung zugesprochen. Eine Überdosierung mit Selen kann oxidative Schäden verursachen und damit zu einer genetischen Instabilität führen.

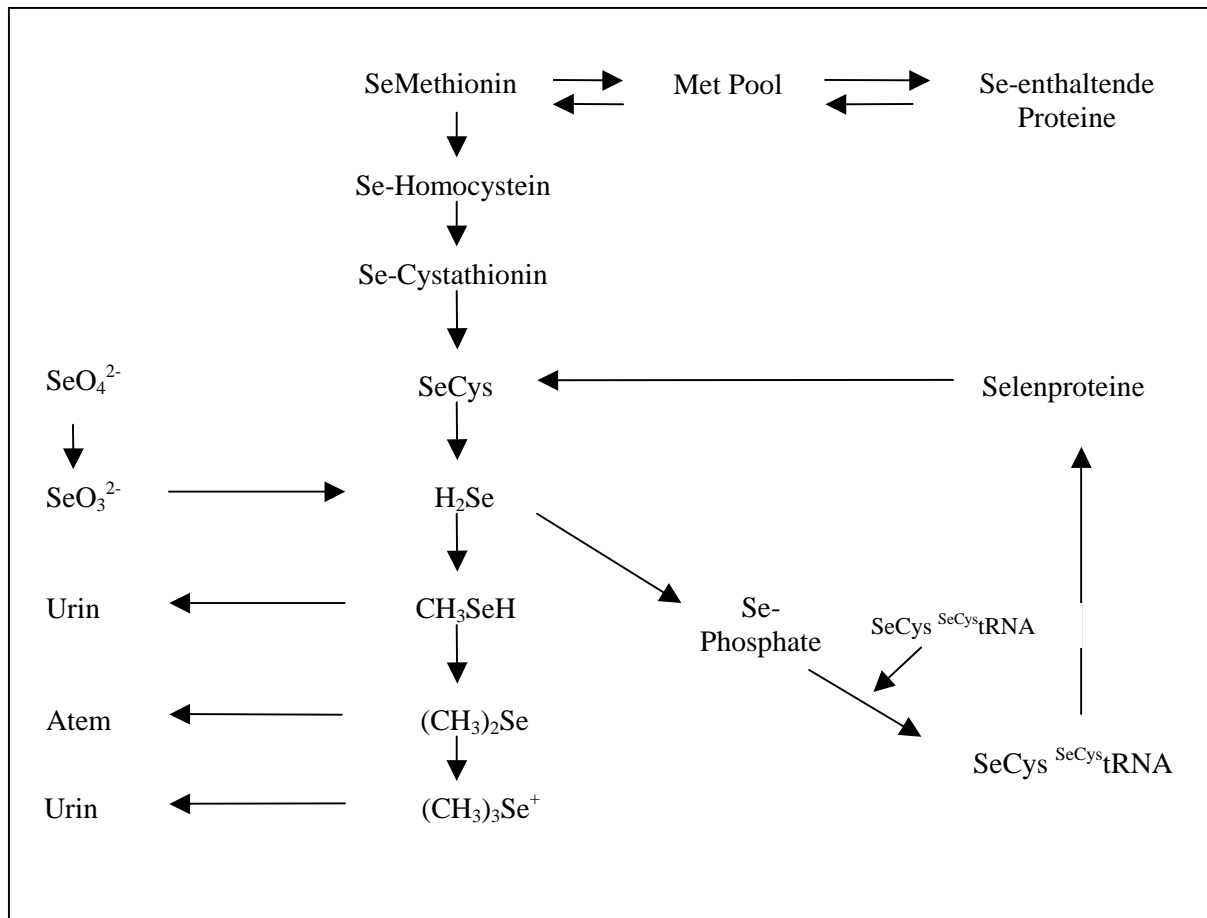
Die Resorption von Selen erfolgt beim Menschen überwiegend über die Nahrung, die Selengehalte im Trinkwasser sind sehr niedrig. Der tägliche Selenbedarf des Organismus liegt zwischen 10 und 100 µg [Mahapatra et al. 2001]. Er sollte vorzugsweise organisch gebunden sein, da Selen als Methionin- oder Cystin-Derivat im Allgemeinen sehr viel weniger giftig ist als seine anorganischen Verbindungen. Eine Inkorporation von über 1000 µg Selen täglich kann eine toxische Wirkung verursachen. Bedingt durch den dualen Charakter des Sels, ist der Bereich zwischen essentiellen Selenbedarf und toxischer -überdosierung sehr schmal.

Selenmangel führt zu Störungen der Muskelfunktion, zu Haar- und Nagelwuchsstörungen, erhöhter Strahlenempfindlichkeit der Haut, Schilddrüsenfehlfunktion und zur schnellen Gewebeeralterung.

Bei oraler Applikation wird Selen überwiegend im Dünndarm resorbiert. Anorganische Selenite werden dabei in der Dünndarmschleimhaut passiv resorbiert und zu Selenwasserstoff reduziert. Dieser wird dann über die Bildung von Selenphosphat und einem Selencysteinkomplex selektiv in Selenproteine eingebaut oder mit dem Urin nach seiner Methylierung ausgeschieden. Organische Selenverbindungen werden dagegen über den Transportmechanismus der entsprechenden Aminosäuren resorbiert. Abbildung 4 zeigt eine schematische Darstellung des Abbaumechanismus von Selen im menschlichen Organismus.

Das Trimethylselonium-Ion wird bei unbelasteten Personen zu einem geringen Prozentsatz über den Harn ausgeschieden, bei kontaminierten Organismen erhöht sich der Ausscheidungsanteil um ein Vielfaches. So wurde im Urin unbehandelter Ratten nur Monomethylselenhydrid detektiert, im Urin kontaminierter Spezies wurde dagegen das Trimethylselonium-Ion nachgewiesen [Gonzales-La Fuente 1999, Marchante-Gayon et al. 2001].

Suzuki et al. [1995] beobachteten nach Verabreichung einer selenreichen Nahrung an Ratten größere Veränderungen des Verteilungsverhältnisses der Selenspezies in Urin-, Niere- und Leberproben als in Plasma- und Erythrozytenproben.



**Abbildung 4** Stoffwechsel des Selen im menschlichen Körper

[in Anlehnung an Lobinski et al. 2000]

Die aufeinander folgende Methylierung des Selenwasserstoffes zu den mono-, di- und trimethylierten Formen des Selen wird als Entgiftungsprozess angesehen.

Sowohl Selenalze als auch Selenmethionin bilden mit Schwermetallen wie beispielsweise Quecksilber einen Schwermetall(II)selenkomplex. In Mäusen ergaben sich für Selenit und Selenmethionin unterschiedliche Löslichkeiten und Ausscheidungsraten dieses Komplexes. Während der Schwermetallselenkomplex des Selenits sehr schwerlöslich ist und damit kaum ausgeschieden wird, wird eine Ausscheidung des Schwermetall-selenmethioninkomplexes über den Harn beobachtet [Nielsen und Andersen 1991]. Ob in vivo der gleiche Reaktionsmechanismus besteht, ist noch weitgehend ungeklärt [Drasch 1999]. Vollblutanalysen von Walen ergaben eine sehr gute Korrelation zwischen den Quecksilber- und den Selenkonzentrationen. Eine sehr hohe Schwermetallbelastung der Wale zeigte jedoch keine toxische Wirkung. Ihre selenreiche Ernährung lässt vermuten,

dass im Körper der Tiere vorhandene Schwermetalle durch das Selen komplexiert und somit entgiftet werden [Nielsen et al. 2000].

In-vitro und In-vivo-Versuche zeigten eine hemmende Wirkung der anorganischen Selenite auf die Methylierung von Arsen [Gregus et al. 1998]. Angesichts der kontroversen Diskussionen über die Toxizität anorganischer versus methylierter Arsenverbindungen im menschlichen Organismus (*Abschnitt 1.4.2.2*) ist eine Bewertung dieses Ergebnisses schwierig.

Bei akuter Intoxikation mit Selen treten Reizerscheinungen an den Augen und den Luftwegen, Haarausfall und knoblauchähnlicher Geruch auf, der auf den Zerfall des Dimethylselens zurückzuführen ist [Barceloux 1999]. Ein Rückgang der Symptome wurde nach der Absetzung von Selen innerhalb von ein bis zwei Wochen beobachtet. Die gleichzeitige Gabe von Vitamin C hemmt die Aufnahme von Selen in der Form anorganischer Salze (Natriumselenit), jedoch nicht, falls Selen in organischer Form, z. B. als Hefe, verabreicht wird.

Chronisch bedingte Vergiftungen verursachen Störungen des Intermediärstoffwechsels und äußern sich in Haarausfall, Leber-, Nieren-, Magen- und Darmschädigung und einer sekundären Anämie. Eine karzinogene Wirkung des Selens konnte bisher nicht nachgewiesen werden [Gebel 2000].

Zu Beginn des letzten Jahrhunderts wurden Vergiftungserscheinungen, die seit längerem bei Pferden, Rindern, Schweinen und Hühnern auftraten, als Selenintoxikation identifiziert und auf den Verzehr von selenspeichernden Pflanzen (*Abschnitt 1.2.2*) zurückgeführt. Durch die Gabe von Selen als Ersatz für hormonelle Wachstumsstimulantia bei Wiederkäuern ist die Kenntnis der biologischen Wirkung des Spurenelementes Selen zusätzlich gefordert. Pavlata et al. [2001] untersuchten über einen Zeitraum von zwei Monaten die unterschiedliche Auswirkung von intramuskulär in zwei therapeutischen Dosen injiziertem anorganischen Selen und täglich oral zugeführter Selenhefe auf die Konzentrationen in Blut und Gewebe von Kälbern. Die orale Gabe resultierte in höheren Selenkonzentrationen sowohl im Blut als auch im Gewebe, wobei signifikante Korrelationen der Selengehalte in Leber- und Muskelgewebe und Blut und Leber beobachtet wurden, während zwischen den Selenkonzentrationen in der Niere und dem übrigen Gewebe keine Beziehungen bestanden.

### 1.5 Einsatz von Chelatbildnern

Die Entfernung von Schwermetallen aus dem Organismus wird durch den Einsatz von Chelatbildnern möglich gemacht. Dieser Entgiftungsprozess wird sowohl bei akuten als auch bei chronischen Vergiftungserscheinungen durchgeführt.

Im Falle des Quecksilbers ist die Behandlung einer Intoxikation mit quecksilberorganischen Verbindungen wesentlich problematischer als bei Vergiftungen mit anorganischen Spezies. Bei Methylquecksilberverbindungen führen die üblicherweise eingesetzten chemischen Komplexbildner zu einer Remobilisierung aus dem Gewebe. Das organische Quecksilber kann nun entweder analog den anorganischen Verbindungen durch den Chelatbildner gebunden und aus dem menschlichen Körper entfernt oder in den Nervenzellen abgelagert werden. In letzterem Fall wäre die Anwendung des Chelatbildners kontraproduktiv [Thayer 1988]. Eine bessere Alternative bietet der Einsatz von Selen [Seppänen 1998], der zur Bildung eines Plasma-Protein-Komplexes führt, welcher äquimolare Mengen Quecksilber und Selen enthält [Kosta 1975].

Bei Intoxikationen mit Bleitetraalkylverbindungen sind Chelatbildner ebenfalls unwirksam. Bei Anwendung des Dimercaptopropanols entstehen nur lockere Komplexe, die in der Niere dissoziieren. Durch diese Freisetzung der Bleispezies können tubuläre Schädigungen hervorgerufen werden.

Geeignete Chelatbildner sind im Falle des Arsens DMPS (**D**imercaptopropansulfonsäure) und BAL (2,3-Dimercaptopropanol). Sie können bei akuten und chronischen Intoxikationen mit organischen und anorganischen Arsenverbindungen angewandt werden [Michaux 2000].

### 1.5.1 Chemische Chelatbildner

DMPS, DMSA (2,3-Dimercaptosuccinicacid), BAL und D-Penicillamin sind wohl die bekanntesten Chelatbildner, sie werden auch als Komplexbildner oder Antidots (Gegengift) bezeichnet. Der Ausdruck Chelatbildner ist auf den griechischen Begriff *chele* zurückzuführen. Chelatbildner üben eine starke Anziehungskraft auf die Schwermetalle aus und nehmen diese in die „Zange“. In den Organismus eingebracht, können sie Schwermetalle, die sich außerhalb der Zellen befinden, binden und ausscheidungsfähig machen. Das Durchdringen der Blut-Hirn-Barriere ist ihnen allerdings nicht möglich, ebenso erreichen sie schlecht durchblutetes Gewebe wie z. B. Gelenkknorpel nicht. Die im menschlichen Körper vorhandenen Schwermetalle werden in der Reihenfolge Zink, Zinn, Kupfer, Arsen, Quecksilber, Blei, Eisen, Cadmium, Nickel und Chrom gebunden und ausgeschieden. Diese Ausscheidungsreihenfolge ist bedingt durch die unterschiedlichen Komplexbildungskonstanten der zwischen Komplexbildner und Schwermetall bestehenden chemischen Gleichgewichte. Zu erwähnen ist, dass durch die Gabe von chemischen Komplexbildnern nicht nur schädliche Schwermetalle, sondern auch essentielle Spurenelemente wie Zink, Eisen und Kupfer aus dem Organismus entfernt werden. Vor der Eliminierung von Quecksilber durch den Chelatbildner kommt es also zur bevorzugten Eliminierung des wichtigen Spurenelementes Zink.

DMPS wurde 1950 in der Ukraine entwickelt. Dort erkrankten junge Grubenarbeiter bei der Erzgewinnung auf Grund der chronischen Schwermetallbelastungen und starben in einem mittleren Alter von 30 Jahren. Die Behandlung mit DMPS führte zu einer höheren Lebenserwartung.

BAL wurde zur Behandlung akuter Vergiftungen mit Arsen, Blei, Kupfer, Silber und anorganischem Quecksilber eingesetzt [Ellenhorn und Barceloux 1988, Kazantzis 1986], eindeutig kontraindiziert ist der Einsatz bei einer akuten Cadmiumchlorid- und Arsenchlorid-Intoxikation. Auf Grund der Bildung eines lipophilen Metall-BAL-Komplexes besteht die Möglichkeit einer vermehrten Anreicherung des Metalls im Gehirn. Dies konnte für anorganisches Arsen im Gehirn des Kaninchens gezeigt werden [Hoover und Aposhian 1983]. Der Einsatz der weniger toxisch wirkenden hydrophilen BAL Analoga DMSA und DMPS wird daher bevorzugt [Houeto 1994].

Darüber hinaus haben Komplexbildner vom Typ der EDTA-Salze (Ethylendiamintetraessigsäure) Bedeutung erlangt. Sie binden durch Ionenaustausch die toxischen Metalle und bringen sie in dieser Form zur Ausscheidung. Abbildung 5 zeigt die Wirkungsweise der unterschiedlichen Chelatbildner und die resultierenden Komplexe.

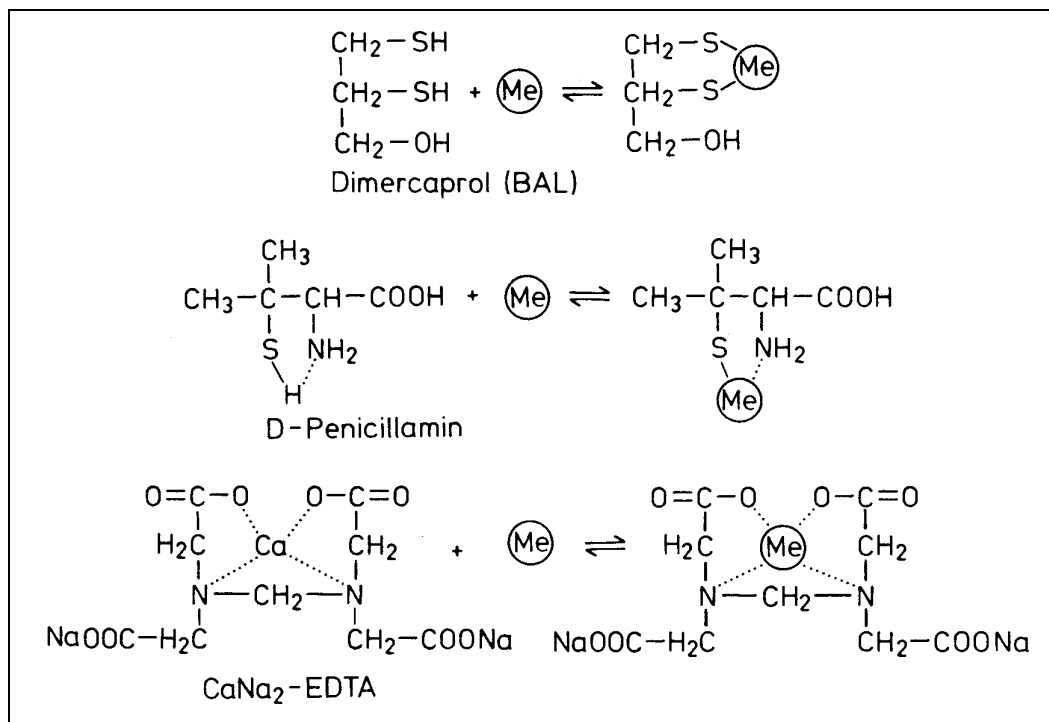


Abbildung 5 Chelatbildner bei Metallintoxikation

### 1.5.2 Pflanzliche Chelatbildner

#### 1.5.2.1 Die Süßwasser-Mikroalge *Chlorella pyrenoidosa*

Weltweit sind etwa 25.000 Algenarten bekannt. Unterschieden werden die Süßwasseralgen von den Salzwasser- oder Meeresalgen. Algen werden anhand ihrer Größe in Mikro- und Makroalgen unterteilt. Sie gehören zu den ersten Lebewesen auf der Erde und sind in der Urzeit vor 2,5 bis 3,5 Milliarden Jahren entstanden. Durch ihre Fähigkeit, Kohlenstoffdioxid aufzunehmen und Sauerstoff abzugeben, haben sie maßgeblich zur Erzeugung einer sauerstoffhaltigen Atmosphäre beigetragen, welche die Entwicklung von Sauerstoff verbrauchenden Lebewesen ermöglichte. Sehr viele

Algenarten besitzen die Fähigkeit, Schwermetalle zu binden. Auf Grund der starken Verschmutzung der Weltmeere durch Einleitung von Abwasser und Verwendung schwermetallhaltiger Schiffsfarben enthalten Meeresalgen hohe Schwermetallkonzentrationen. Die Süßwasseralge *Chlorella pyrenoidosa* ist bezüglich der Aufnahme von Schwermetallen die effektivste von elf *Chlorella*-Arten. Sie ist so klein wie ein rotes Blutkörperchen (7 µm) und wird zu den Mikroalgen gerechnet. Einzig die *Chlorella pyrenoidosa* besitzt gewisse Substanzen, wie Sporopollein, Chlorellin und den im Zellkern vorkommenden *Chlorella*-Growth-Faktor (CGF). Sie kann sich innerhalb eines Tages um das 40fache vermehren. Ihr Chlorophyllgehalt ist der höchste aller Lebewesen auf der Erde. An ihr entdeckte der Wissenschaftler Melvin Calvin die Photosynthese, wofür er 1961 den Nobelpreis erhielt.

Sporopollein ist eine Substanz, die in der mittleren Zellwand der Alge vorkommt und die Fähigkeit besitzt, Schwermetalle zu binden. Chlorellin und CGF wirken als Probiotikum, sie stimulieren das Wachstum von Milchsäurebakterien im Darm. Chlorophyll absorbiert Photonen und produziert daraus zusammen mit Kohlenstoffdioxid und Wasser Energie und Sauerstoff. Neben einer positiven Auswirkung auf die Gesundheit des Menschen durch Regulierung der Darmtätigkeit, Unterstützung der Wundheilung und Steigerung der Herzleistung ist es in der Lage, freie Radikale zu binden.

*Chlorella pyrenoidosa* besteht zu 60 % aus Eiweiß, zu 20 % aus Kohlenhydraten, zu 11 % aus Fett, (größtenteils mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie z. B. Omega-3-Fettsäuren) und zu 9 % aus sonstigen Bestandteilen wie Vitaminen, Mineralien und Wasser.

Die Einnahme der *Chlorella*-Alge vermag die im Verdauungskanal gelegenen Schwermetalle effektiv zu binden und auszuschleiden [Klinghardt 1997]. Ihre Funktionsweise beruht auf der Störung des enterohepatischen Kreislaufes, indem die Resorption der Schwermetalle in den unteren Darmabschnitten durch irreversible Bindung an die Zellmembran der Alge verhindert wird. CGF wirkt nicht nur im Darm selbst, sondern tritt ins Blut über und kann die im Gewebe vorhandenen Giftstoffe binden und abtransportieren. Eine Mobilisierung der im Gehirn vorhandenen Schwermetalle ist indessen nicht möglich.

Die Kontrolle des Abtransportes der Schwermetalle aus dem Organismus findet dementsprechend über die Analyse von Stuhlproben statt.



### **1.5.2.2 Das biologische Präparat *Asparagus P***

Die Inhaltsstoffe des biologischen Arzneimittels *Asparagus P* sind Spargelwurzel- und Petersilienkrautpulver als Hauptbestandteile und Macrogol, Stearinsäure, Cellulose, Mineralstoffe sowie Spurenelemente wie Asparagin, Glykosid, Calcium, Phosphor und Kalium als Nebenbestandteile. *Asparagus P* enthält sehr viele SH-Gruppen, die in der Lage sind, Metalle und Metalloide im Körper zu binden und in eine wasserlösliche Form zu überführen. Folglich erfolgt die Ausscheidung der Schwermetalle aus dem Organismus über die Niere und ist über Harnanalysen kontrollierbar.

## ***Analytischer Teil***

### **2     *HG/LT-GC/ICP-MS-Kopplung***

Das ambivalente Lösungsverhalten der metall- und metalloorganischen Verbindungen bedingt ihre toxikologische Relevanz. Die Lipophilie bestimmt ihre Toxikokinetik und ermöglicht ein Penetrieren biologischer Membranen und Akkumulieren im menschlichen Organismus. Damit ist die eindeutige Bestimmung von metall- und metalloorganischen Verbindungen in einer Vielzahl von Matrices in Bezug auf die Umweltchemie, die Öko- und Umwelttoxikologie, die Medizin, berufsbedingte Gesundheitsgefährdung und die Pharma- und Lebensmittelindustrie eine wichtige Herausforderung der modernen analytischen Chemie.

Die Kenntnis des Gesamtgehaltes eines Elementes in einer Probe lässt oft keine direkten Rückschlüsse auf dessen Bedeutung in einem biologischen System zu. Um Aussagen über die Bioverfügbarkeit, Mobilität, Stabilität und letztlich Toxizität des Elementes treffen zu können, ist eine Bestimmung der Bindungsverhältnisse, in denen es vorliegt, erforderlich. So ist im Falle des Arsens eine Analyse des Harns die Methode der Wahl zur Bestimmung einer Exposition im Organismus, wobei die Speziierung jedoch notwendig ist. Beispielsweise gibt eine, bedingt durch einen beträchtlichen Anteil an Arsenobetain und Arsenocholin in Fischen und Meeresfrüchten, hohe Arsengesamtkonzentration auf Grund dieser bisher für den Menschen als nicht toxisch eingestuften Arsenverbindungen, keine Auskunft über die tatsächlich vorliegende Belastung des menschlichen Körpers. Erst durch die Speziierung des Elementes können diesbezüglich signifikante Aussagen getroffen werden.

Das Vorliegen von metall- und metalloorganischen Verbindungen in komplexen biologischen Matrices erfordert bis zum quantitativen Nachweis der einzelnen Spezies mehrere Analysenschritte. Die Speziierung der Elemente soll in der vorliegenden Arbeit anhand der Verflüchtigung der Komponenten, ihrer Überführung in eine Separationseinheit und anschließenden elementspezifischen Detektion realisiert werden.

Ein Hintereinanderschalten von einzelnen aus eigenständigen analytischen Methoden bestehenden Systemen mit dem Ziel auf möglichst elegantem Wege Informationen über

Analyte zu beschaffen, wird als Kopplung bezeichnet. Die Möglichkeiten dieser Kopplungen gehen über die der eigenständig angewandten Einzeltechniken hinaus.

Eine bekannte Methode der speziesselktiven instrumentellen Technik basiert auf der online-Kopplung einer Separationsmethode (GC, HPLC, CE) mit einem empfindlichen und elementspezifischen Detektor (ICP-AES, ICP-MS).

Abbildung 6 zeigt die schematische Darstellung der erforderlichen Analysenschritte, die durch ein Kopplungssystem zusammengeführt werden.

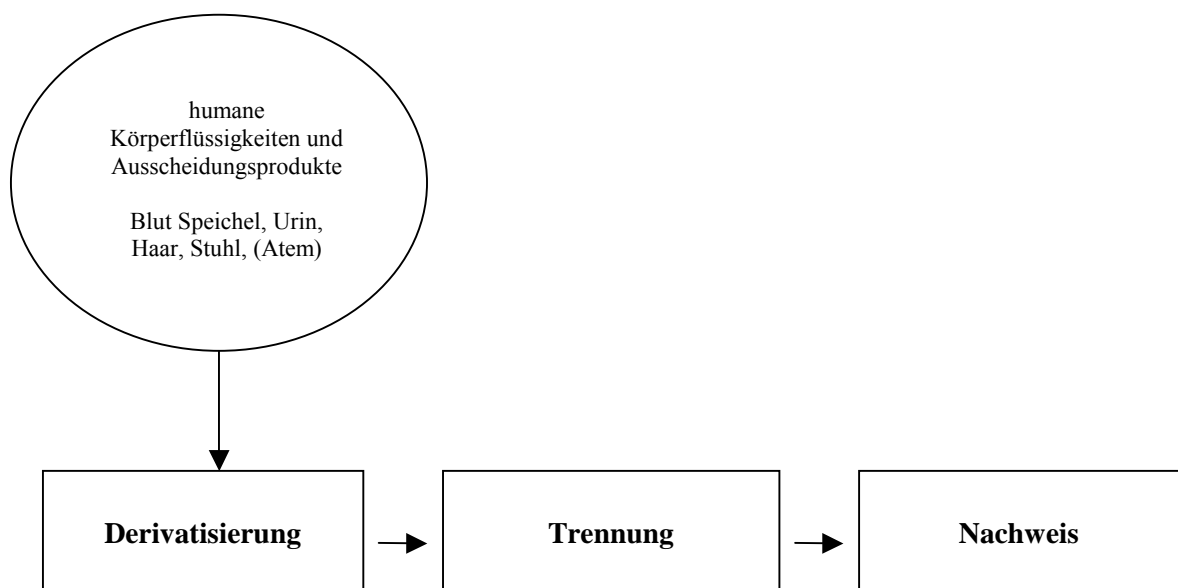


Abbildung 6 Schematische Darstellung eines Kopplungssystems

Während die Atomemissionsspektrometrie unter Einsatz eines simultanen Spektrometers auf Grund von Schnelligkeits- oder Flexibilitätseinbußen und zu geringer Nachweisstärke nicht als idealer Partner für die Kopplungstechnik in der Elementspeziesanalytik angesehen wird [Dunemann und Begerow 1995], stellt die induktiv gekoppelte Plasma-massenspektrometrie eine etablierte Methode für die Spuren- und Ultraspurenmetallanalyse dar, welche die Vorteile der hohen Signalempfindlichkeit, des niedrigen Untergrundes, des weiten dynamischen Messbereiches und der Fähigkeit zur schnellen Multielement-Detektion und Isotopenverdünnungsanalyse in sich vereint.

Durch die Verwendung einer online-Kopplung zwischen Gaschromatographie und ICP-MS wird die Analytik von leichtflüchtigen Elementspezies ermöglicht. Bei dieser Kopplung werden nahezu 100 % der Probe in das Plasma eingebracht. Da der Analyt gasförmig vorliegt und daher keine Desolvatisierung und Verdampfung im Plasma notwendig ist, wird dort eine effektive Atomisierung und Ionisierung erzielt. Ferner weist die Gaschromatographie im Gegensatz zur Flüssigkeitschromatographie eine größere Trenneffizienz auf [Rosenberg 2001].

Mit Hilfe der HPLC/ICP-MS-Kopplung lassen sich schwerer flüchtige und hochmolekulare Verbindungen analysieren, die sich der direkten gaschromatographischen Trennung weitestgehend entziehen. Die Auftrennung der Elementspezies erfolgt lediglich auf Grund physikalischer und chemischer Effekte, je nach Trennproblem können verschiedene Modifikationen wie Ionenaustausch-, Ionenpaar- oder Größenausschlusschromatographie gewählt werden.

Die Kopplung zwischen Kapillarelektrophorese und ICP-MS eignet sich insbesondere für die Analyse von höhermolekularen Biopolymeren und überschneidet sich ansonsten in ihrem Anwendungsgebiet mit dem der HPLC/ICP-MS, hat aber gegenüber dieser deutliche Vorteile wie höhere Trennschärfe, kürzere Analysenzeiten, kleinere Probenvolumina und einen größeren Einsatzbereich, da sich anionische, kationische und neutrale Verbindungen gleichzeitig trennen lassen.

Die hier verwandte HG/LT-GC/ICP-MS-Kopplung (*Hydride Generation / Low Temperature-Gas Chromatography / Inductively Coupled Plasma- Mass Spectrometry*), besteht aus drei Komponenten, nämlich der Hydridgenerierung zur Synthese flüchtiger Verbindungen, ihrer Tieftemperatur-gaschromatographischen Separation, der Ionisation der Analyten im induktiv gekoppelten Plasma und dem massenspektrometrischen Nachweis derselben.

## 2.1 Derivatisierungstechniken

Viele metall- und metalloorganische Verbindungen liegen in flüssigen oder festen Systemen meist gelöst, komplex- oder an Partikel gebunden vor. Da diese Bindungsform der Gasanalytik nicht zugänglich ist, müssen die Verbindungen durch geeignete Maßnahmen in ihre korrespondierenden flüchtigen Derivate überführt werden. Bei allen Derivatisierungstechniken werden die freien Valenzen der ursprünglichen Verbindungen so abgesättigt, dass ein nach außen hin ungeladenes Molekül entsteht.

Gängige Überführungstechniken sind die Hydrierung, die Ethylierung und generell die Alkylierung mittels Grignard-Reagenzien.

Letztere findet im Rahmen der Methylierung und Ethylierung für die Analysen von Umweltproben, häufig in Bezug auf Zinn- und Bleiverbindungen, Verwendung [Ebdon et al. 2001].

Weitere Grignard-Reagenzien mit Propyl-, Pentyl-, Hexyl- und Heptylgruppen werden auf Grund der niedrigen Siedepunkte der Methyl- und Ethylgermaniumderivate, bei der Derivatisierung des Germaniums, angewandt [Jiang und Adams 1996].

Die Grignard-Reagenzien ( $\text{RMgX}$ ) sind Magnesium(Mg)-organische (R)Verbindungen, bei denen das Metall mit einem Halogen (X), in den meisten Fällen Brom oder Chlor verbunden ist. Der Kohlenstoff besitzt eine beträchtliche negative Partialladung, was den Grignard-Reagenzien eine hohe Reaktionsfähigkeit verleiht, die sich in ihrem stark nucleophilen Charakter äußert.

Sie greifen positiv polarisierte Atome an und führen dabei zu einer Additionsreaktion an der funktionellen Gruppe des Ausgangsstoffes.

Allerdings fordert die Verwendung von Grignard-Reagenzien auf Grund ihrer stark exothermen Reaktion mit Wasser das Arbeiten in strikt aprotischen Lösungsmitteln. Dies macht bei der Probenvorbereitung zusätzliche Extraktions- und Trocknungsschritte erforderlich und birgt die Gefahr der Veränderung der ursprünglich in der Probe vorliegenden Spezies.

Cai et al. [1994] führten die Derivatisierungsreaktion direkt in einer Sedimentprobe durch, benötigten aber, bedingt durch das Auftreten von Nebenreaktionen, einen enormen Überschuss an Grignard-Reagenz.

Alternativ zur Alkylierung mit Grignard-Reagenzien können tetraalkylierte Borate in wässrigen oder suspendierten Systemen zu Derivatisierungszwecken eingesetzt werden.

Die Ethylierung mit Natriumtetraethylborat ( $\text{NaBEt}_4$ ), bei der durch direkten Transfer des Ethylanions Ethylgruppen auf das Metallzentrum übertragen werden, findet bevorzugt bei der Speziierung von Quecksilber-, Blei- und Zinnverbindungen Anwendung [Rapsomanikis und Craig 1991, Hintelmann et al. 1995, Martin und Donard 1995, Ceulemans und Adams, 1996, Sergeeva et al. 1997, Dunemann 1999].

Da das  $\text{NaBEt}_4$  an der Luft brennbar ist und unter Abgabe toxischer Gase (Triethylborane) zerfällt, ist zur Herstellung der wässrigen  $\text{NaBEt}_4$ -Lösung das Arbeiten in Schutzgasatmosphäre obligatorisch. Ein weiterer entscheidender Nachteil ist, dass metall- und metalloorganische Komponenten, die Ethylgruppen enthalten, nach der Derivatisierung nicht mehr als solche erkannt werden können. Eine Triethylzinnverbindung würde also nach erfolgter Ethylierung als Tetraethylzinn vorliegen, genauso wie eine anorganische Zinn(IV)-Verbindung.

Im Vergleich dazu bietet die Hydridgenerierung den entscheidenden Vorteil, der unproblematischen Identifizierung der ursprünglich vorliegenden Spezies da keine neuen Alkylgruppen in die vorliegenden Verbindungen eingeführt werden.

Bekannte Techniken zur Hydridbildung sind elektrochemische Verfahren, Metall/Säure (oft  $\text{Zn}/\text{HCl}$ )- und Tetrahydroboratreduktionen. Ferner stellte Grüter [1998] eine auf der katalytischen Hydrierung mit Wasserstoff an einem Palladium-7/8-Cluster als Katalysator beruhende Hydridtechnik vor.

Die gebräuchlichste Methode ist die Hydrierung mittels Natriumtetrahydroborat, mit der eine große Anzahl an Verbindungen verschiedener Elemente schnell und mit hoher Ausbeute in ihre korrespondierenden Hydride überführt werden kann. Diese ebenfalls in der vorliegenden Arbeit angewandte Derivatisierungsmethode wird in *Abschnitt 2.2* genauer erläutert.

Kösters [2002] zeigte anhand von Methyl- und Butylzinnstandards, dass die Hydrierung gegenüber der Ethylierung die empfindlichere und nachweisstärkere Derivatisierungsmethode darstellt.

Studien über den Vergleich unterschiedlicher Derivatisierungstechniken, im Besonderen der Hydrierung mit  $\text{NaBH}_4$ , der Methylierung bis hin zur Butylierung mit Grignard-Reagenzien und der Ethylierung mittels  $\text{NaBEt}_4$ , sind in der Literatur weit verbreitet [Martin und Donard 1995, Diego et al. 1998, Craig et al. 1999b, Fernandez et al. 2000]. Dabei differieren, entsprechend der jeweils vorliegenden metall- und

metalloidorganischen Verbindungen und der Probenmatrix, die Derivatisierungstechniken der Wahl.

## 2.2 Die Hydridgenerierung mit Natriumborhydrid

Die Hydridgenerierung umfasst nach Dedina und Tsalev [1995] sowohl die Freigabe der Hydride aus der Reaktionslösung in die Gasphase als auch den Transport durch ein Trägergas in den Detektor. Wird diese Methode um den Einsatz einer Sammeleinheit zur Anreicherung der flüchtigen Hydride erweitert, so wird der gesamte Vorgang ebenfalls als Hydridgenerierung bezeichnet.

Zu den hydridbildenden Elementen gehören Arsen, Antimon, Bismut, Blei, Germanium, Quecksilber, Selen, Tellur, Thallium und Zinn.

Höher molekulare metall(oid)organische Verbindungen wie z.B. die Arsenverbindungen Arsenobetain, Arsenocholin und die Arsenozucker oder die Selenverbindungen Selenomethionin und Selenocystein sind keine Hydridbildner und können mit der angewandten Methode nicht nachgewiesen werden.

### 2.2.1 Theoretische Grundlagen

Die Hydridbildungseffizienz  $\beta_{\text{HG}}$  ist als der Anteil der Analyte definiert, der als Hydride dem Detektor zugeführt wird [Dedina und Tsalev 1995]:

$$\beta_{\text{HG}} = \frac{N}{C_A V_P}$$

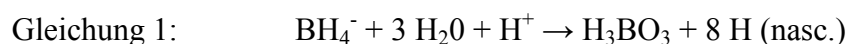
mit:

$N$  = Gesamtzahl der Analyten, die als Hydride dem Detektor zugeführt werden

$C_A$  = Konzentration des Analyten in der Probe

$V_P$  = Probenvolumen

Während der Hydridbildung mit Natriumborhydrid als Reduktionsmittel laufen zwei konkurrierende Reaktionen ab, die Umwandlung des Analyten in das korrespondierende Hydrid und die Zersetzung des  $\text{NaBH}_4$ . Letztere wird als  $\text{BH}^-/\text{Säure}$  Reaktion bezeichnet und ist Gleichung 1 dargestellt:



Die Bildung des nascierenden Wasserstoffes beginnt unmittelbar mit der Zugabe der alkalischen Tetrahydroboratlösung zu dem sauer vorgelegten Reaktionsgemisch.

Falls die Reaktion bei einem pH-Wert  $\leq 1$  abläuft, erfolgt die Zersetzung des Tetrahydroborates innerhalb weniger Mikrosekunden [Narsito et al. 1990]. Hierbei hat weder die Konzentration der Säure noch die  $\text{BH}_4^-$ -Konzentration einen Einfluss auf den Anteil des Tetrahydroborates, der zersetzt wird. In einem höheren pH-Bereich (3,8 bis 14) gehorcht die Zersetzung des Tetrahydroborates einer Reaktionskinetik 2. Ordnung und ist damit ebenso von der Konzentration des  $\text{NaBH}_4$  wie von der der Säure abhängig.

Üblicherweise wird das Tetrahydroborat als Natrium- oder Kaliumsalz in Form einer wässrigen Lösung eingesetzt.

Um eine vollständige Umwandlung des Analyten in sein korrespondierendes Hydrid zu erreichen, ist ein beachtlicher Überschuss an Reduktionsmittel erforderlich. Narsito et al. [1990] zeigten einen Anstieg der notwendigen Menge an  $\text{NaBH}_4$  entsprechend der Reihe  $\text{Sb(III)} < \text{Se(IV)} < \text{As(III)} < \text{As(V)}$  für eine quantitative Überführung des Analyten in seine Hydridform in einer matrixfreien Reaktionslösung.

Gleichung 1 ist für die Zersetzung des Natriumborhydrides in saurer Lösung allgemein anerkannt. Der Mechanismus dieses Zerfalles wird über die Bildung von Boranen oder Diboranen als Zwischenstufe, welche in saurer Lösung sehr schnell zu den entsprechenden Produkten gemäß Gleichung 1 reagieren, diskutiert. Vien und Fry [1988] konnten bei der Hydridgenerierung mit dem  $\text{BH}^-/\text{Säure}$  System Spuren flüchtiger Borane identifizieren.



Das Reduktionsmittel wird gewöhnlich in einem Überschuss von mehreren Größenordnungen in Bezug auf die Menge des Analyten eingesetzt. Bei der hier angewandten Hydridgenerierungsmethode kann es eine weitere Funktion übernehmen: Der bei der Reaktion erzeugte Wasserstoff unterstützt das Spülgas bei der Überführung der Hydride aus der Reaktionsmischung in die Gasphase. Ein Austreiben der entstehenden flüchtigen Verbindungen ist notwendig, da die Konzentration der Hydride in der Reaktionsmischung oft viel niedriger ist, als ihre Löslichkeit im wässrigen Medium [Grüter 1998].

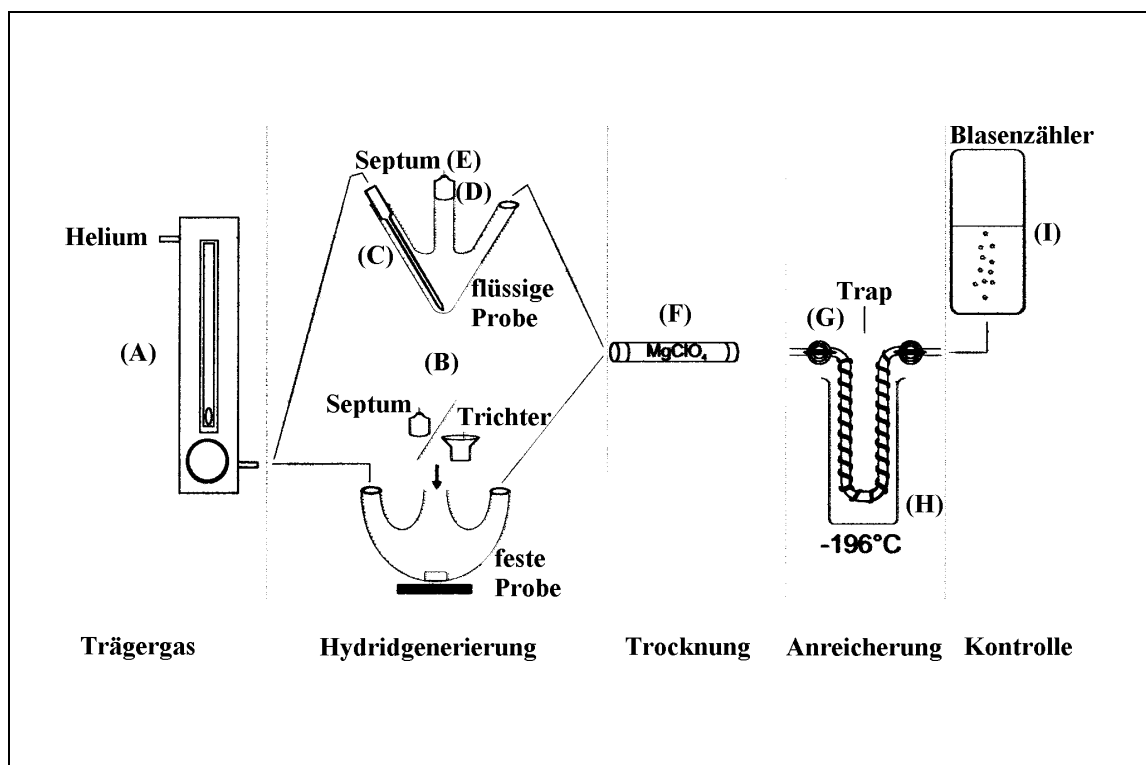
### ***2.2.2 Hydridgenerierung zur Verflüchtigung metall- und metalloorganischer Verbindungen in biologischen Proben***

Jeder Schritt während der Probenvorbereitung und –bearbeitung birgt die Gefahr von Kontaminationen, daher sollte der Aufwand bei der Handhabung der Proben so gering wie möglich gehalten werden. Die Analyse biologischer Proben hinsichtlich metall- und metalloorganischen Verbindungen wird durch deren komplexe Matrix erheblich limitiert, damit ist eine Abtrennung der Probenmatrix obligatorisch.

Der Anwendung der Hydridgenerierung folgt eine Entfernung der Spezies aus der ursprünglichen Probe zur Eliminierung der komplexen Probenmatrix.

### 2.2.2.1 Bildung der flüchtigen metall- und metalloidorganischen Verbindungen

Der Aufbau der Hydrierapparatur ist in Abbildung 7 schematisch dargestellt.



**Abbildung 7** Schematische Darstellung der Hydrierapparatur

Das Reaktionsgefäß (B) besteht aus einem 50 mL 3-Hals-Spitzkolben für flüssige und einem entsprechendem Rundkolben für feste oder zähflüssige Proben. Eine vollständige Durchmischung der flüssigen Proben wird durch das Eintauchen des Gaseinleitungsrohres (C) des Spülgases in die Flüssigkeit erreicht [Dedina und Tsalev 1995].

Für eine Durchmischung der festen Proben sorgt ein Magnetrührstäbchen, das mittels einer Magnetrührplatte angetrieben wird. Zum Spülen der Apparatur und Austreiben der entstehenden flüchtigen Spezies während und nach der Hydrierreaktion wird ein Inertgas (A) verwendet, dessen Auswahl durch die Einkondensationstemperatur (*Abschnitt 2.2.2.2*) der flüchtigen Verbindungen limitiert ist. Die Entscheidung fiel zugunsten des Heliums, welches bei flüssigem Stickstoff als Kühlmedium nicht einkondensiert. Die Apparatur wird vor der Inanspruchnahme zwei Minuten mit Helium gespült. Sowohl für den

Spülprozess als auch während der Hydrierung wird eine Fließgeschwindigkeit von 300 mL/min eingestellt.

Das Einfüllen der Probe und 3 %-iger Salzsäure in das Reaktionsgefäß erfolgt unter Entfernung des Einsatzes (D) in einem leichten Heliumgegenstrom. Zur Konstanthaltung der Hydrierbedingungen wird die Reaktionsmischung je nach Art und Menge der zu hydrierenden Probe (*Angewandter Teil*) mittels zweifach deionisiertem Wasser, *Seralpur*, auf ein Gesamtgewicht von 10 g verdünnt. In der Reaktionsmischung wird ein pH-Wert von 1 eingestellt, da die Hydridgenerierung unter sauren Bedingungen sowohl den Transport der flüchtigen Spezies in die Gasphase als auch die Reaktionsgeschwindigkeit beschleunigt.

Das Reduktionsmittel (1 mL 5 %-ige NaBH<sub>4</sub>-Lösung) wird über ein Septum (E) in das geschlossene System injiziert. Die dünne Injektionsnadel ermöglicht dabei eine langsame Zugabe, die einer heftigen Reaktion vorbeugt. Die entstehenden flüchtigen Hydride werden nun unter Einwirkung des Heliumstromes mit einer Fließgeschwindigkeit von 250 mL/min über ein Trockenrohr (F) in die Anreicherungseinheit (G), die in ein Dewargefäß (H) mit Kühlflüssigkeit getaucht ist, transferiert.

Das Ausleiten der nicht kondensierten Gase und die Kontrolle des Reaktionsgeschehens geschieht via Blasenähler (I).

#### **2.2.2.2      *Anreicherung der flüchtigen metall- und metalloideorganischen Verbindungen***

Die Anreicherung der flüchtigen Verbindungen erfolgt in einer Kühlfalle, die aus einer beschickten Sammeleinheit in Form eines 22 cm langen U-förmigen Duranglasrohres mit einem Innendurchmesser von 0,8 cm und einem Außendurchmesser von 1,0 cm, welches in ein Kühlmedium getaucht ist, besteht.

Hinsichtlich der zu erwartenden geringen Konzentrationen der Analyten kommen nur Anreicherungstechniken wie die Absorptions-, Adsorptions- und Kondensationsmethode in Betracht. Feldmann [1995] diskutierte diese Arbeitstechniken und sah die Kondensationsmethode als das Mittel der Wahl. Diese Methode arbeitet gering selektiv, ist aber in der Lage auch sehr leicht flüchtige Verbindungen auffangen und

aufkonzentrieren zu können. Möglicherweise werden, bedingt durch die geringe Selektivität dieser Anreicherungstechnik, je nach Temperatur des Kühlmediums und Zusammensetzung der Probe, Matrixkomponenten in der Kühlfalle, auch Trap genannt, angereichert. Die Einkondensationstemperatur liegt bei der Hydrierung biologischer flüssiger oder fester Proben bei  $-196\text{ °C}$  (flüssiger Stickstoff). Durch die Anwendung des Cryotrappings können die Hydride aus jedem beliebigen Probenvolumen angereichert werden.

Für die Überführung von Atemproben aus den Probennahmebehältern in die Kondensationseinheit wird eine Kühltemperatur von  $-80\text{ °C}$  (Aceton/flüssiger Stickstoff) festgelegt. Hier steht die Abtrennung der Matrixgase der Respiration, vornehmlich Kohlenstoffdioxid mit einem Sublimationspunkt von  $-78,5\text{ °C}$  [Synowietz und Schäfer 1984], gegenüber einer quantitativen Anreicherung der Probe im Vordergrund. Bei einer Einbringung von Kohlenstoffdioxid ins Plasma des ICP-MS besteht einerseits die Möglichkeit des Erlöschens des Plasmas. Weiterhin kommt es durch die Anwesenheit des  $\text{CO}_2$  im Plasma zur Bildung diverser Sauerstoffverbindungen, welche zu einer extremen Zunahme der isobaren Interferenzen führen. Bei einer Temperatur von  $-80\text{ °C}$  wird Kohlenstoffdioxid nur zu einem geringen Teil resublimiert. Die flüchtigen metall(oid)organischen Hydridspezies können auf Grund ihrer Siedepunkte, bis auf das  $\text{GeH}_4$  (Sdp.  $-88,5\text{ °C}$ ), sämtlich einkondensiert werden. Studien zur Wiederfindungsrate von Zinnverbindungen zeigen jedoch, dass bei einer Kühltemperatur von  $-80\text{ °C}$  für das  $\text{Me}_2\text{SnH}_2$  (Sdp.  $35\text{ °C}$ ) eine Abscheidungseffizienz von 85 % und für das  $\text{SnH}_4$  (Sdp.  $-52\text{ °C}$ ) eine Abscheidungseffizienz von lediglich 0,1 % erreicht wird [Feldmann 1995].

Durch die Gasentwicklung im Verlauf der Hydrierung, das Schäumen des Reaktionsgemisches auf Grund bestimmter Matrixbestandteile und das Sprudeln der Reaktionslösung bzw. -suspension infolge des Durchleitens des Spülgases können kleinste Wassertröpfchen mit dem Gasstrom in die Trap gelangen. Um einem Ausfrieren des Wassers infolge der niedrigen Einkondensationstemperatur und somit einem Verstopfen der Trap vorzubeugen, ist der Anreicherungseinheit ein Trockenrohr vorgeschaltet. Als Trockenmittel wird das hygroskopisch wirkende Magnesiumperchlorat ( $\text{MgClO}_4$ ), das in Laborversuchen [Grümping 1993] mit methylierten Zinnverbindungen als verlustfreies Trocknungsagens getestet wurde, eingesetzt.

Da es sich bei den flüchtigen metall- und metalloorganischen Verbindungen überwiegend um unpolare Spezies handelt, erfährt die Kondensationsmethode durch die Verwendung unpolarer Adsorptionsmittel eine Effizienzsteigerung. Das Einbringen des Trägermaterials in das Kondensationsröhrchen bewirkt eine Vergrößerung der effektiven Oberfläche, ohne dass für den Analyten eine Zersetzungsgefahr besteht. Als Adsorptionsmittel wird ein Produkt der Firma Supelco und zwar Methylsiliconöl (SP-2100) auf Supelcoport als Trägermaterial mit einer 10 %-igen Belegung verwendet. Hiermit werden die Quarzglasröhrchen zu  $\frac{3}{4}$  gefüllt (1,5 g), mittels Glaswolle an den Enden fixiert und mit einem Heizdraht, mit einer maximalen Heizleistung von 250 °C, versehen. Die so bestückten Traps werden auch als Adsorptionsröhrchen bezeichnet.

Die entstehenden Hydride werden nach der Zugabe des  $\text{NaBH}_4$  mit einer Transferzeit von 10 Minuten mit Hilfe des entstehenden Wasserstoffes und durch das Spülgas in die Trap übergeleitet. Die Hydrierung erfolgt hier aus Flexibilitätsgründen offline, das beladene Adsorptionsröhrchen wird mittels *Swagelog*-Endkappen verschlossen und bis zum Zeitpunkt der Messung in flüssigem Stickstoff aufbewahrt. Durch die Lagerung bei tiefen Temperaturen werden die adsorbierten Spezies kinetisch stabilisiert. Untersuchungen zeigten, dass nach einer vierwöchigen Lagerung der Traps in flüssigem Stickstoff keine Veränderung der ursprünglichen Spezies und Konzentrationen auftreten [Krupp 1999].

Die Verflüchtigung metall- und metalloorganischer Verbindungen mittels Hydridgenerierung ist neben der angestrebten Derivatisierung von verschiedenen intra- und intermolekularen Umordnungsprozessen begleitet. Solche Transalkylierungsreaktionen wurden bei der Hydrierung mittels  $\text{NaBH}_4$  für verschiedene Spezies des Elementes Antimon in Abhängigkeit vom pH-Wert beobachtet [Koch et al. 1998]. Von Grüter [1998] wurde bei der Hydridgenerierung mit Natriumtetrahydroborat eine Demethylierung von Dimethylarsinsäure nachgewiesen, wobei ein exponentieller Abfall der Ummethylierungsrate mit steigendem pH-Wert auftrat. In Folgestudien wurde von Hitzke [2000] der gleiche exponentielle Zusammenhang für die Transmethylierung des Trimethylarsenoxid bei der Hydrierung festgestellt.

Dodd et al. [1992] und Craig et al. [1999] zeigten bei der Hydridgenerierung mit Tetrahydroborat unter sauren Bedingungen neben der Reduktion des pentavalenten  $\text{Me}_3\text{SbCl}_2$  zu  $\text{Me}_3\text{Sb}$  die Bildung der flüchtigen trivalenten Antimonspezies  $\text{SbH}_3$ ,  $\text{MeSbH}_2$  und  $\text{Me}_2\text{SbH}$ .

Haas und Feldmann [2000] beobachteten ebenfalls die Bildung aller vier trivalenten Antimonspezies aus dem  $\text{Me}_3\text{SbCl}_2$  gaben aber für die beste Reproduzierbarkeit dieser Demethylierungen einen pH-Wert von 7 an.

Ferner wurden bei der Durchführung von Derivatisierungen Hinweise auf die Übertragung von Methylgruppen zwischen unterschiedlichen Elementen gefunden. Rosenkranz et al. [1997] zeigten den Alkylgruppentransfer von Dimethylarsinsäure, Trimethyl- und Tetraethylbleichlorid auf anorganisches Quecksilber(II). Neben einer pH-Wert-Abhängigkeit wurde eine bevorzugte Bildung der dialkylierten gegenüber den monoalkylierten Quecksilberspezies nachgewiesen.

Weiterreichende Studien auf dem Gebiet der intra- und intermolekularen Transalkylierungsreaktionen bei der Hydridgenerierung wurden im Rahmen einer parallelen Promotionsarbeit am Institut für Umweltanalytik durchgeführt [Grüter].

### **2.3 Das gaschromatographische Trennsystem**

Zur Trennung niedermolekularer Spezies der Elemente Antimon, Arsen, Bismut, Blei, Germanium, Iod, Quecksilber, Selen, Tellur und Zinn ist der Einsatz der Gaschromatographie als Trennsystem am besten geeignet, da diese Spezies thermische Stabilität besitzen und unzersetzt verdampfbar sind.

Das Prinzip der Gaschromatographie basiert auf der Separation der gasförmigen Komponenten nach ihren unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften. Die relevanteste Eigenschaft ist dabei der Siedepunkt, der durch die Molekülgeometrie und die chemische Zusammensetzung bestimmt wird.

Die Wahl des Säulenmaterials hat einen besonderen Einfluss auf die Trennleistung des Gaschromatographen. Bei niedrigen Siedetemperaturen wird meist eine gepackte Säule mit einer stationären Flüssigkeit, die als homogen haftender Flüssigkeitsfilm auf einem festen Trägermaterial aufgebracht ist, gewählt. Die Flüssigkeit muss dabei inert gegenüber

den Analyten sein, eine möglichst hohe Viskosität im gewählten Temperaturbereich vorweisen und zur Trennung der gewünschten Substanzen in der Lage sein.

Die Verteilungschromatographie im Rahmen der gaschromatographischen Stofftrennung beruht auf der wiederholten Verteilung unterschiedlicher Komponenten zwischen der stationären und der mobilen Phase, die die Analyten als Trägergas durch die chromatographische Säule führt. Das Trennprinzip und der Aufbau des hier verwendeten eigenkonstruierten Separationssystems, basierend auf der gaschromatographischen Trennung mit gepackter Säule, wird im Folgenden erläutert.

### 2.3.1 Physikalische Grundlagen der Gaschromatographie

Die Verteilung von Verbindungen zwischen der mobilen und der stationären Phase bei der Gas-Flüssig-Chromatographie erfolgt nach dem Nernst'schen Verteilungssatz und wird durch den Verteilungskoeffizienten  $K$  beschrieben:

$$\frac{C_{\text{Fl(A)}}}{C_{\text{Gas(A)}}} = K$$

mit  $C_{\text{Fl(A)}}$  : Konzentration des Stoffes A in der flüssigen Phase

$C_{\text{Gas(A)}}$  : Konzentration des Stoffes A in der Gasphase

$K$  : Verteilungskoeffizient

Danach verteilt sich eine Komponente in zwei nicht mischbaren Phasen derart, dass ihr Verhältnis der Konzentrationen in beiden Phasen unabhängig von der Konzentration selbst ist. Dies gilt für konstante Druck- und Temperaturbedingungen, wobei der Verteilungskoeffizient  $K$  in Bereichen niedriger Konzentrationen der zu trennenden Komponenten unabhängig von der Gesamtmenge der einzelnen Komponente ist.

### 2.3.2 Charakterisierung gaschromatographischer Systeme

Im Rahmen der Bodentheorie wird eine Trennstufe oder ein *theoretischer Boden* als ein virtueller Abschnitt der Trennsäule, in dem die einmalige Einstellung des Verteilungsgleichgewichtes zwischen mobiler und stationärer Phase für eine bestimmte Komponente stattfindet, bezeichnet. Die Trennleistung einer chromatographischen Säule ist durch das Verhältnis zwischen der Retentionszeit der einzelnen Komponenten und der Peakbreite in der graphischen Darstellung des Trennvorganges, dem sogenannten Chromatogramm, beschrieben und wird durch die Zahl der theoretischen Böden und damit durch die Zahl der Gleichgewichtseinstellungen während des gesamten chromatographischen Trennvorganges charakterisiert.

Die für einen theoretischen Boden benötigte Länge der Trennsäule wird als theoretische Bodenhöhe *HETP*, *Hight Equivalent to a Theoretical Plate*, bezeichnet und verkleinert sich mit steigender Säuleneffizienz, was sich in schmaleren Peaks äußert.

Die Höhe des theoretischen Bodens ist direkt zur Säulenlänge (L) und umgekehrt zur theoretischen Bodenzahl (N) proportional:

$$HETP = L / N$$

Dabei bezieht sich in der Chromatographie die Anzahl der theoretischen Böden wie auch die HETP immer nur auf eine bestimmte Komponente einer bestimmten Konzentration [Schomburg 1997].



Bei den gepackten Säulen wird die Verbreiterung der Peaks durch drei Arten der Diffusion beeinflusst:

- Streudiffusion (A)
- molekulare Diffusion (B)
- Stoffübergang zwischen mobiler und stationärer Phase (C)

Im Jahre 1956 stellte *van Deemter* für die Gaschromatographie eine Gleichung vor, die alle drei Faktoren kombiniert und sie als Abhängigkeit der *HETP* von der linearen Geschwindigkeit der mobilen Phase darstellt:

$$HETP = A + \frac{B}{u} + C \cdot u$$

Darin ist  $u$  die durchschnittliche lineare Strömungsgeschwindigkeit der mobilen Phase, die Konstanten A, B und C repräsentieren die jeweiligen Diffusionseffekte.

Die Streudiffusion ist abhängig von der Güte des Säulenfüllmaterials der stationären Phase. Aus einer breiten Korngrößenverteilung und einer inhomogenen Packung resultieren für die Stoffteilchen in der mobilen Phase unterschiedliche Weglängen, die zu einer Verbreiterung des Peaks führen.

Bei niedrigen Strömungsgeschwindigkeiten des Trägergases führt die molekulare Diffusion in Richtung der Säulenseitenachsen zu einer Peakverbreiterung.

Eine relative Löslichkeit der Probe in der stationären Phase hindert den Stoffübergang in die mobile Phase, woraus unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeiten der Analytteilchen durch die Säule und Verbreiterung der Peaks resultieren.

Während die Streudiffusion unabhängig von der Geschwindigkeit der mobilen Phase ist, zeigen die beiden letzten Terme diesbezüglich gegenläufige Abhängigkeiten.

Dies wird in der graphischen Auftragung der HETP gegen die Strömungsgeschwindigkeit in Abbildung 8 verdeutlicht.

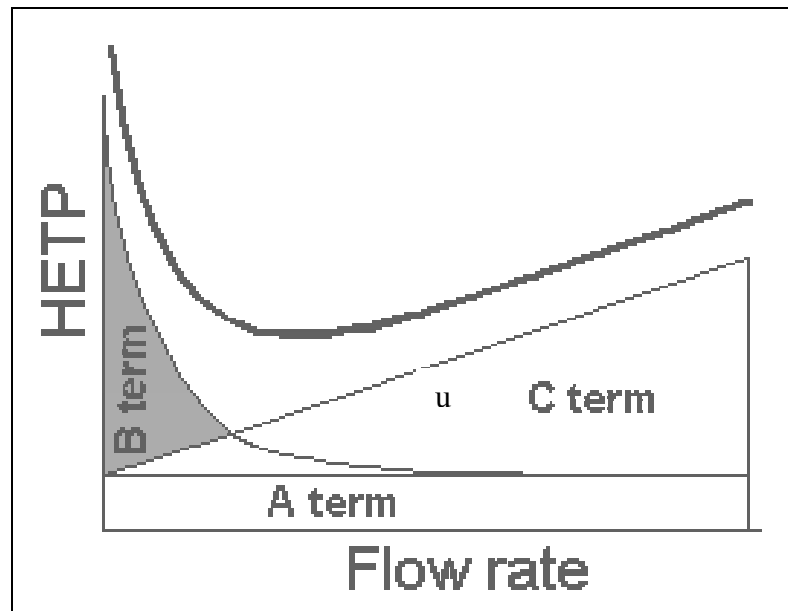


Abbildung 8 Graphische Darstellung der *van-Deemter*-Gleichung

Die Auflösung ist für die Beurteilung der Trennungsgüte der geeignete Parameter, sie wird über das Verhältnis der Retentionszeitdifferenz zu der Summe der Halbwertsbreiten zweier Komponenten bestimmt. Damit wird die Bodentheorie über die Auflösung mit dem Ergebnis einer chromatographischen Messung in Beziehung gesetzt.

### 2.3.3 Aufbau der LT-GC Trenneinheit

Die in Abbildung 9 dargestellte Tieftemperatur-gaschromatographische Trenneinheit ist eine Eigenkonstruktion, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit entwickelt, optimiert und publiziert wurde [Grüter et al. 2000]. Die Stofftrennung erfolgt hierbei hauptsächlich durch Thermodesorption mit anschließender Chromatographie.

Eine Grundlinientrennung von insgesamt 44 Verbindungen der Elemente Antimon, Arsen, Bismut, Blei, Germanium, Iod, Quecksilber, Selen, Tellur und Zinn, hauptsächlich methylierte und ethylierte Spezies, sowie der anorganischen Elementhydride, ist innerhalb von 20 Minuten problemlos möglich.

Wegen der hohen Reaktivität und Instabilität der vorliegenden Verbindungen muss das Eingehen chemischer Reaktionen verhindert und die Temperatur der Trennung so niedrig wie möglich gewählt werden.

Die Trap des gaschromatographischen Systems wird innerhalb von 12 Minuten von -196 °C auf 150 °C geheizt. Das Temperaturprofil ist durch die Siedepunktsunterschiede von -23,5 °C für  $\text{MeGeH}_3$  bis 250 °C für  $\text{Bu}_3\text{SnH}$  der einzelnen Spezies festgelegt. Die Siedepunkte der entsprechenden Hydride liegen bei noch tieferen Temperaturen, beispielsweise -88,5 °C für  $\text{GeH}_4$ .

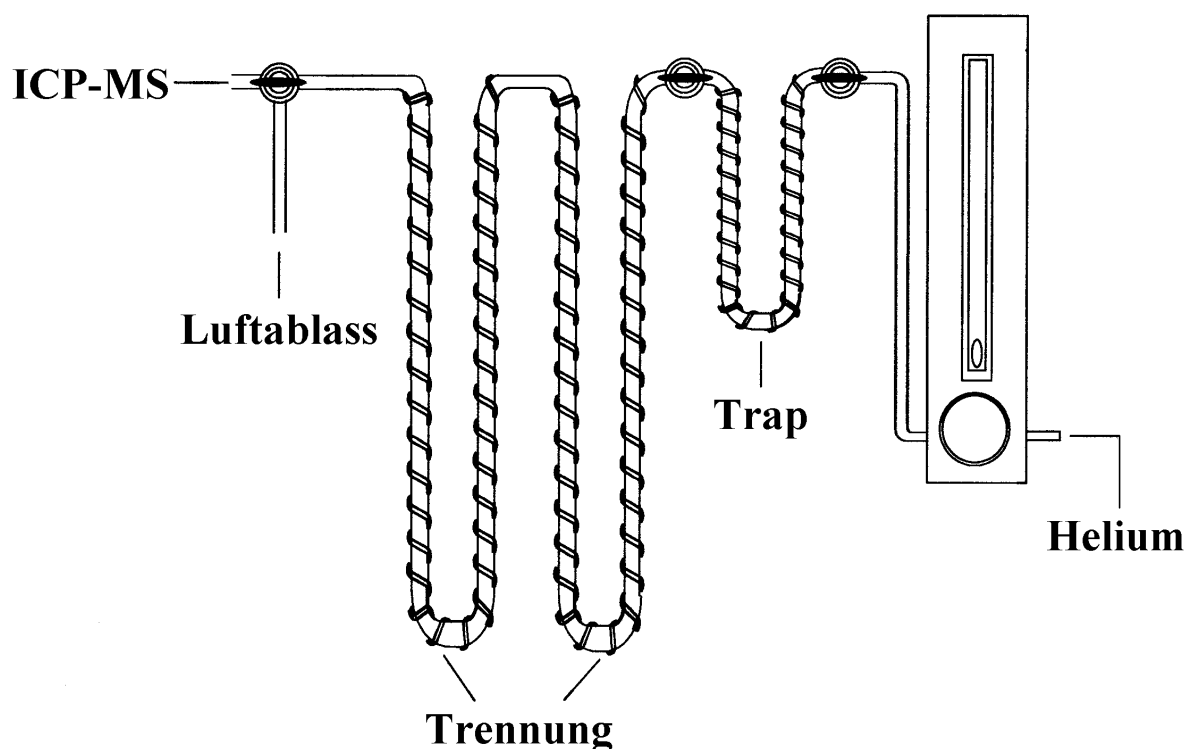


Abbildung 9 Gaschromatographisches Trennsystem

Die Kontrolle der Tieftemperatur wird durch die direkte Kühlung der Trap mit flüssigem Stickstoff erreicht. Für die Kontrolle und Einstellung der höheren Temperaturen sind die Trap und die gaschromatographische Trennsäule mit einem Heizdraht umwickelt. Letztere hat mit einem Innendurchmesser von 0,3 cm und einem Außendurchmesser von 0,5 cm eine Gesamtlänge von 160 cm und ist mit 4 g Methylsiliconöl (SP-2100) auf Supelcoport mit einer 10 %-igen Belegung gefüllt. Durch die Länge der Trennsäule erübrigt sich eine Refocussierung der Spezies, womit ein zusätzlicher Bearbeitungsschritt vermieden wird. Aus konstruktionstechnischen Gründen ist die Trennsäule in zwei uniforme Säulen unterteilt.

Die Trap mit den einkondensierten Spezies wird über *Swagelog*-Verbindungen bei -196 °C in das gaschromatographische Trennsystem eingebaut und sequentiell erwärmt. Während des Aufheizens der Trap werden die Trennsäulen von 18 °C auf 100 °C (1. Säule) bzw. 50 °C (2. Säule) aufgeheizt.

Durch das Erwärmen der Trap werden die einzelnen Spezies sequentiell verflüchtigt und durch einen Heliumfluss von ca. 100 mL/min in die gaschromatographischen Säulen

überführt. Die Aktivierungsenergie für diese Desorption wird durch die Zufuhr thermischer

Energie bereitgestellt. Nach Verlassen des gaschromatographischen Systems werden die getrennten Verbindungen mit Hilfe des Trägergasstromes der Detektoreinheit zugeführt. Die Möglichkeit der Entfernung von Matrixbestandteilen besteht über einen 3-Wege-Hahn durch ein eigen entwickeltes Aufheiz- / Einkondensationsprogramm ohne Verluste der flüchtigsten Spezies.

Die Transferleitung zwischen dem gaschromatographischen Separationssystem und der Detektoreinheit besteht aus einem 1 m langem PTFE Schlauch mit einem Innendurchmesser von 0,7 mm und wird über einen Widerstandsheizdraht, zur Vermeidung von *Memory*-Effekten durch Adsorption oder Kondensation der flüchtigen Spezies an den Wänden der Transferleitung, auf 120 °C erwärmt. Die Isolation der Transferleitung wird über einen bis 200 °C hitzebeständigen Silikonschlauch realisiert.

Die Trennung der metall- und metalloorganischen Verbindungen basiert somit auf zwei Prinzipien: Der sequentiellen Verflüchtigung durch den Trägergasstrom und der Thermodesorption gefolgt von der gas-flüssig chromatographischen Trennung.

## 2.4 Massenspektrometer mit Plasmaanregung

Die ICP-Massenspektrometrie ist die derzeit empfindlichste Methode zur simultanen Multielementanalyse mit absoluten Nachweisgrenzen im Picogramm-Bereich. Die Bestimmung der Elementarzusammensetzung einer Probe erfolgt durch ihre Zerlegung in Atome, Ionisierung der Atome und massenspektrometrischer Detektion der Ionen. Die Kopplung der hocheffizienten Ionenquelle über ein Vakuuminterface mit einem schnellen Quadrupolmassenfilter als Detektor führt zu einem linearen Messbereich und einer sehr hohen Empfindlichkeit.

### 2.4.1 Zufuhr und Ionisation der Probe

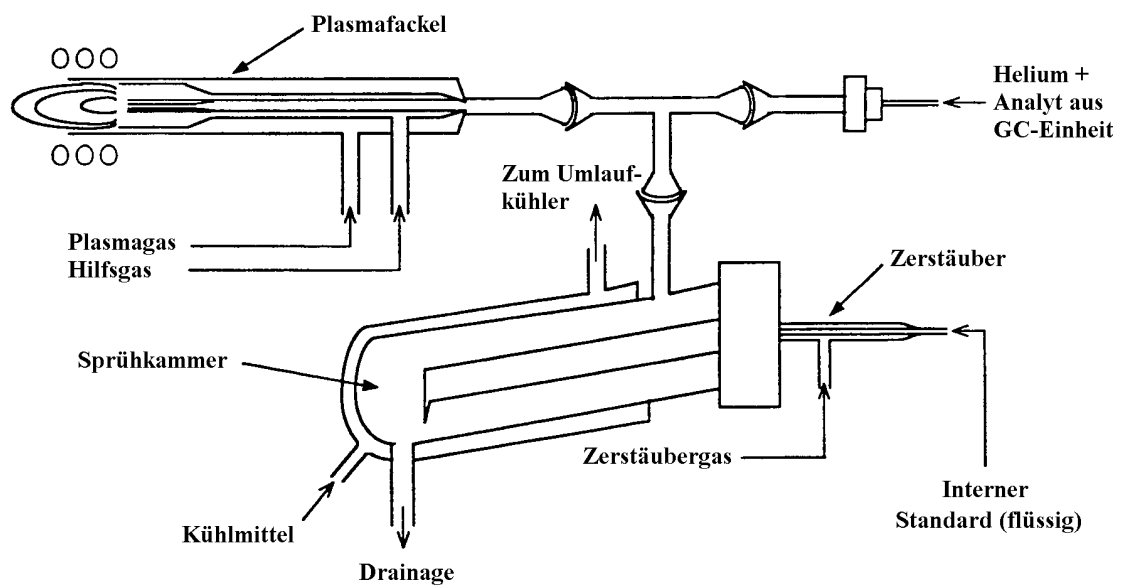
Das verwandte Massenspektrometer mit Plasmaanregung (Fisons VG Plasmaquad 2+) ist üblicherweise für den Eintrag von flüssigen wässrigen Proben ausgelegt, wobei die zu analysierende Lösung dem Plasma durch Zerstäuben als feuchtes Aerosol zugeführt wird. Hierbei erreichen durch Klassierungsvorgänge nur Tröpfchen  $< 10 \mu\text{m}$  das Plasma, dies entspricht einem Probeneintrag von lediglich 1 bis 4 % [Veillon und Reamer 1981].

Im Gegensatz dazu ermöglicht die direkte Einbringung gasförmiger Komponenten in das Plasma eine nahezu vollständige Zufuhr der Probe. Um die Intensität des Messsignals bei der direkten Einleitung des trockenen Aerosols nicht zu beeinflussen, wird eine Lösung auch beim Vermessen der gasförmigen Probe zudosiert, so dass ein quasi befeuchtetes Aerosol mit Analyt ins Plasma gelangt. Dies wird durch die Verwendung eines internen Standards (*Abschnitt 2.6*) realisiert.

Die in der gaschromatographischen Trenneinheit nach ihren Siedepunkten separierten Analyten werden als Aerosol über den Injektorgasstrom direkt in das bis zu 7000 K heiße induktiv gekoppelte Argon-Plasma eingebracht. Die Konstruktion der Plasmafackel ermöglicht ein Einbringen der Probensubstanzen ins Plasmaminnere ohne dabei dessen Stabilität zu beeinträchtigen. Durch die konzentrisch angeordneten Quarzglasrohre werden

Kühl- und Plasmagasstrom zur Stabilisierung des Plasmas und der Injektorgasstrom zur Zufuhr der Probenaeerosole und des internen Standards in das Plasma geleitet. Dort erfolgt die Trocknung, Atomisierung und Ionisierung der Aerosole, so dass die Analyten als entsprechende Element-Ionen der Metall- oder Metalloidverbindungen vorliegen.

Abbildung 10 zeigt den schematischen Aufbau für die Zufuhr der Analyten und des flüssigen Internen Standards durch Zerstäubung in die Plasmafackel.



**Abbildung 10** Kopplung des GC-Trennsystems mit Zerstäubereinheit und Plasmafackel des ICP-MS [in Anlehnung an Krupp1999]

### 2.4.2 Aufbau der Detektionseinheit

Abbildung 11 zeigt eine schematische Darstellung des ICP-MS. Der massenspektrometrischer Nachweis wird im Folgenden näher erläutert.

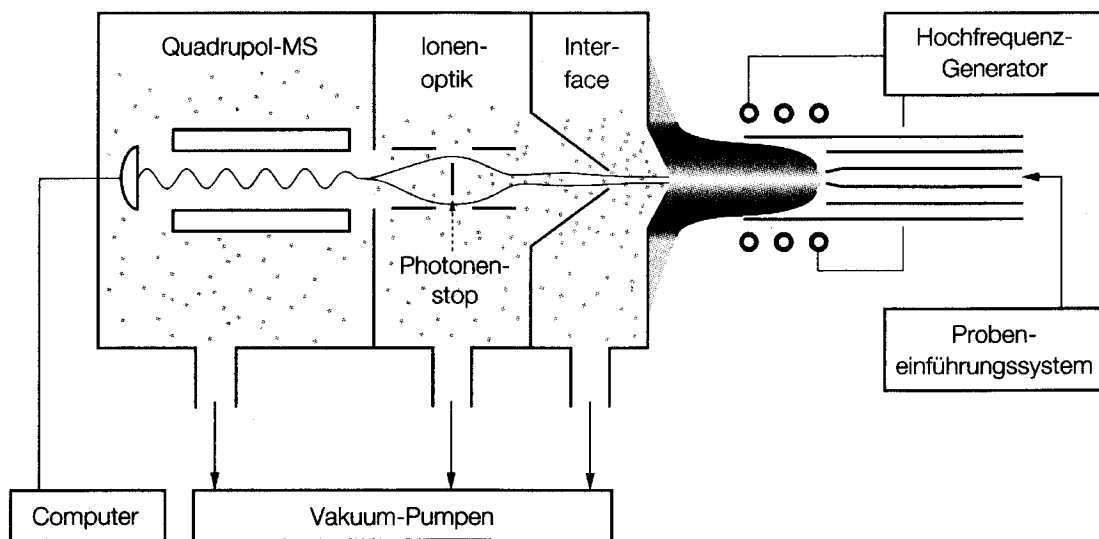


Abbildung 11 Blockschema eines ICP-MS [Kläntschi et al. 1996]

### 2.4.3 Massennachweis

Während das Plasma bei Atmosphärendruck unter sehr hohen Temperaturen arbeitet, benötigt das Quadrupol-Massenspektrometer ein Hochvakuum. Dies wird durch das dem ICP nachgeschaltete dreistufige Vakuum-System, welches zur Fokussierung des Ionenstrahls im Hochvakuum ( $p < 5 \cdot 10^{-6}$  mbar) und zu dessen Zufuhr in den Quadrupol-Massenspektrometer dient, realisiert. Dort erfolgt die Separation der Ionen nach ihrem Masse-Ladungsverhältnis ( $m/z$ ).



Ein Quadrupolmassenspektrometer besteht aus vier konzentrisch parallel zueinander angeordneten Molybdänstäben als Elektroden. An jedem Paar gegenüberliegender Elektroden liegt eine Gleichspannung an, die von einer hochfrequenten Wechselspannung überlagert wird. Ein Ionenstrahl innerhalb des Stabsystems wird durch das Hochfrequenzfeld zu massenabhängigen Schwingungen angeregt. Nur für Ionen mit definiertem  $m/z$ -Verhältnis bleibt die Schwingungsamplitude so klein, dass sie auf einer stabilen Flugbahn das System passieren und in den Detektor gelangen (*Abbildung 11*). Alle übrigen Ionen fliegen ungerichtet umher bis zu ihrer Entladung an den Quadrupolstäben oder den Systemwänden. Durch das Verändern der Werte für Gleich- und Wechselspannung kann das komplette Massenspektrum durchfahren werden.

Als Detektor fungiert ein Sekundärelektronenvervielfacher, der aus hintereinandergeschalteten Dynoden und einem Auffänger besteht. Durch ein auftreffendes Ion werden aus einer Dynode Elektronen herausgeschlagen und auf die nächste Dynode beschleunigt. Dieser Ablauf führt zur Entwicklung einer Elektronenlawine. Der am Auffänger ankommende Elektronenstrom wird dann als Signal der computergesteuerten Datenakquisition bereitgestellt.

### **Isobare Interferenzen**

Ein Problem bei der Verwendung des Quadrupol-ICP-Massenspektrometers ist die unzureichende Auflösung des Massenfilters. Spezies ähnlicher Massen werden nicht mehr getrennt und vom Detektor ohne Unterscheidung registriert.

Vor allem im Bereich zwischen Plasma und Massenspektrometer entstehen durch nicht gespaltene Moleküle und Reaktionen an der Grenzschicht zahlreiche Molekülionen. Als Quellen kommen sowohl das Plasmagas als auch Probenbestandteile in Betracht. Insbesondere bei der Analyse von gasförmigen Proben (Atem) werden Matrixbestandteile der Detektoreinheit zugeführt. Aus dem Plasmagas stammen Teilchen wie  $\text{Ar}^+$ ,  $\text{ArO}^+$  und  $\text{Kr}^+$ . Beispielsweise stört die Bildung von  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$  in chlorhaltiger Matrix bei der Messung wässriger Proben die Bestimmung des Monoisotopelementes  $^{75}\text{As}$  nachhaltig, da ein Ausweichen auf ein anderes Isotop nicht möglich ist. Im Gegensatz dazu können für den Selenachweis die beiden interferenzarmen Isotope  $^{77}\text{Se}$  und  $^{82}\text{Se}$  herangezogen werden.

Besonders für Elemente mit Atommassen unter 80 wird das Auftreten von isobaren Interferenzen beobachtet. Diese Interferenzen bewirken folglich ein erhöhtes Analytsignal durch eine andere Spezies gleicher Masse und führen damit zu einem zu hohen detektierten Analytgehalt.

Ein Schritt zur Verminderung oder gar Eliminierung dieser Interferenzen ist die Verwendung von Kollisions- oder Reaktionszellen. Sie ermöglichen durch den gezielten Einsatz von Reaktionsgasen chemische Reaktionen, die überlagernde Moleküle vollständig entfernen können. Nicht nur die analytische Richtigkeit der Messungen wird verbessert auch werden die Nachweisgrenzen sonst interferierender Analyten drastisch gesenkt. Speziell der direkte Eintrag biologischer Proben steht neuerdings im Blickpunkt des Interesses, ebenso mit Meerwasser ein Prototyp, der sich bislang der direkten Messung mit dem Quadrupol-ICP-MS entzog.

Eine weitere Neuerung auf dem Gebiet der Massenspektrometer ist der Einsatz eines Flugzeitmassenspektrometers, welches sowohl die Präzision als auch die Nachweisstärke für die Multielementbestimmung erhöht.

Bei einem Quadrupol-ICP-MS erfolgt die Selektion der Ionen nacheinander, so dass die Zeit, die für eine Messung benötigt wird, direkt proportional der Anzahl der zu messenden Isotope ist. Im Gegensatz dazu ist das **Time-of-Flight (TOF)**-System durch simultane Ionenselektion in der Lage, alle gewünschten Isotope des Ionenstrahls gleichzeitig zu messen, wobei die Präzision nicht von der Anzahl der gewählten Elemente beeinflusst wird.

Moens [1997] liefert einen Überblick über die unterschiedlichen ICP-Massenspektrometer und deren Anwendungsbereiche in der Spurenelementanalyse biologischer Materialien.

## 2.5 Identifizierung flüchtiger metall(oid)organischer Verbindungen

Da die organischen Reste der metall- und metalloïdorganischen Verbindungen im Zuge der Ionisierung im Plasma des ICP-MS vollständig von dem Metall oder Metalloïd abgetrennt und zerstört werden, geht jegliche Strukturinformation verloren, detektiert wird ausschließlich das Metall(oid). Damit wird eine der Detektion vorhergehende Separation der unterschiedlichen Spezies eines Elementes obligat. Diese Trennung erfolgt in dem gaschromatographischen System, bedingt durch die Wahl der stationären Phase, ausschließlich nach Lage der entsprechenden Siedepunkte. Dementsprechend kann die Identifizierung der einzelnen Verbindungen anhand einer Siedepunkt/Retentionszeitkorrelation der Signale eines Elementes vorgenommen werden [Amouroux et al. 1998]. Hierzu wurde mittels verschiedener Standardverbindungen eine Regressionsfunktion gebildet, die in Abbildung 12 dargestellt ist.

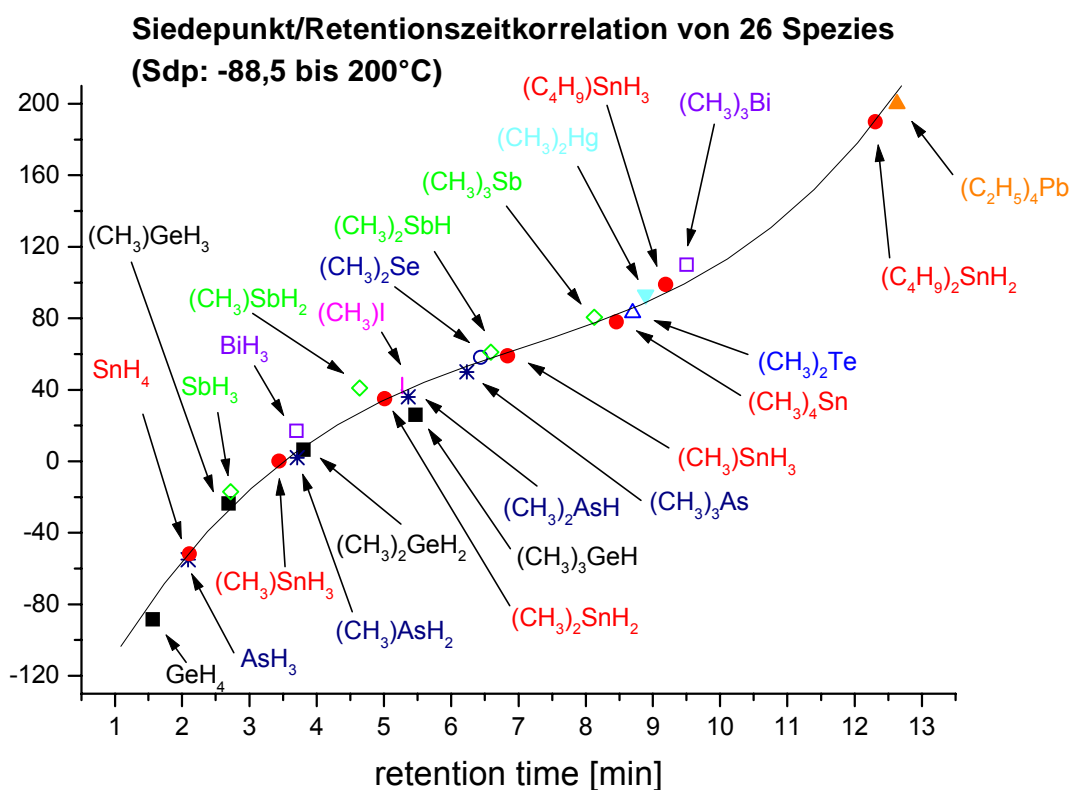


Abbildung 12 Korrelation von Siedepunkt und Retentionszeit für 26 Spezies

Zwischen Siedepunkt (**y**) und Retentionszeit der Spezies (**x**) besteht ein Zusammenhang, der mathematisch mit folgender Gleichung durch eine polynomische Regression einer Funktion 3. Ordnung mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,99, beschrieben werden kann:

$$y = (-182,359) + (79,667 \cdot x) + (-9,399 \cdot x^2) + (0,437 \cdot x^3)$$

Diese Funktion 3. Ordnung steht im Zusammenhang mit dem angewendeten Aufheizprogramm für die gaschromatographischen Säulen, welches in einer Temperatur versus Zeitauftragung den gleichen Verlauf des Graphen zeigt.

Der Siedepunkt einer unbekannten Verbindung wird nun durch Einsetzen der erhaltenen Retentionszeit in obige Gleichung ermittelt. Durch die Anwendung dieses Verfahrens wird eine Identifizierung und semiquantitative Bestimmung von Spezies mit einem Siedepunkt bis zu 100 °C ermöglicht. Alle höher siedenden Komponenten können identifiziert werden, ihre Quantifizierung im Rahmen der in *Abschnitt 2.6* angegebenen Fehlergrenzen ist nur bedingt möglich. Durch sterisch anspruchsvolle Liganden kann sowohl eine Verzögerung ihres Austreibens aus der Probenlösung in das Adsorptionsröhrchen und ein gehindertes Passieren des Trockenrohres bei der Hydrierung, als auch eine Verzögerung des Verlassens der gaschromatographischen Säule durch stärkere Wechselwirkungen mit dieser, resultieren.

Bei der in der vorliegenden Arbeit angewandten Hydridgenerierung mit NaBH<sub>4</sub> als Reduktionsmittel lagern sich H<sup>-</sup> Ionen an die freien Valenzen der in der Probe vorhandenen metall- und metalloorganischen Verbindungen an. Beispielsweise wird bei einem in einer Harnprobe vorliegenden Me<sub>2</sub>AsCl Molekül im Zuge der Hydrierung das Cl<sup>-</sup> Ion gegen das H<sup>-</sup> Ion substituiert, es resultiert das flüchtige Me<sub>2</sub>AsH Molekül, welches dann aus der Lösung getrieben und nachgewiesen wird. Es können allerdings bei der Detektion von Me<sub>2</sub>AsH keine Aussagen bezüglich des ursprünglich vorhandenen Substituenten getroffen werden.

Unterscheidungen bezüglich des Oxidationszustandes anorganischer Metall(oid)e, beispielsweise  $\text{As}^{\text{III}}/\text{As}^{\text{V}}$ , sind, da diese als Hydride detektiert werden, nicht möglich.

Eine Ausnahme stellt das Quecksilber dar, seine anorganisch vorliegende Form ( $\text{Hg}^{2+}$ ) wird durch das Hydrierungsreagenz zu  $\text{Hg}^0$ , welches mit einem Sättigungsdampfdruck von  $15 \text{ mg/m}^3$  sehr flüchtig ist und analog den anderen Hydriden aus der Lösung getrieben wird, reduziert. Folglich genügt die Retentionszeit des elementaren Quecksilbers nicht der Siedepunkt/Retentionszeitkorrelation sondern wird einzig durch seinem Dampfdruck bestimmt.

Auch die Retentionszeit des  $\text{PhAsH}_2$  stimmt nicht mit der Siedepunkt/Retentionszeitkorrelation überein. Bedingt durch den relativ großen organischen Substituenten treten zusätzliche Wechselwirkungen mit der unpolaren stationären Phase der gaschromatographischen Säule auf, die zu einer Verlängerung der Verweilzeit des Moleküls im System führen und in einer höheren Retentionszeit als gemäß der Siedepunkt/Retentionszeitkorrelation erwartet, resultiert.

## **2.6 Quantifizierung flüchtiger metall(oid)organischer Verbindungen mittels Interelement-Interaggregat-Kalibrierung (IIK)**

Das üblicherweise zur Kalibrierung verwendete Verfahren der externen Kalibrierung mit Standards entsprechend der Analyte kann, auf Grund der nicht sehr stabilen Verbindungen der zu analysierenden Gase und dem Fehlen geeigneter Kalibriergase hier nicht angewendet werden.

Die Quantifizierung erfolgt mittels interner Gas-Flüssig-Kreuzelement-Kalibrierung, die Feldmann [1997] für das in der vorliegenden Arbeit genutzte ICP-MS entwickelte. Diese Methode bewährte sich bereits im Rahmen verschiedener Studien [Krupp 1996, Hirner et al. 1998, Hirner et al. 2000]. Dabei werden dem ICP-MS während der gesamten Analysendauer der Analyt gasförmig und der interne Standard als Lösung simultan zugeführt. Als Standard sollte ein Element gewählt werden, welches ein ähnliches

Plasmaverhalten, bedingt durch vergleichbares Ionisierungspotential, ähnliche Masse und eine hohe relative Häufigkeit des verwendeten Isotops, wie die Analyten aufweist und in der Probe nicht enthalten ist. Ein gängiger, diesen Anforderungen dienlicher, hier ebenfalls verwandter, interner Standard ist das Rhodium.

Da die Ionenbildungsrate im Plasma des ICP-MS und die Überföhrungsrate in das Interface elementspezifisch sind und daraus unterschiedliche Signalempfindlichkeiten der Analyten und des internen Standards resultieren, muss zur Quantifizierung ein relativer elementspezifischer Empfindlichkeitsfaktor (RSF) für jeden Analyten eingeföhrt werden, der über die Vermessung einer Standardlösung, die sowohl die Analyt-, als auch die Rhodiumionen enthält, ermittelt wird:

$$RSF_{Analyt} = \frac{\text{Intensität}_{Analyt} \cdot \text{Konzentration}_{Rh}}{\text{Intensität}_{Rh} \cdot \text{Konzentration}_{Analyt}}$$

Die absolute Menge eines bestimmten Analyten ergibt sich, nach Subtraktion der entsprechenden Blindwerte, durch Integration des Intensitätssignals über die Zeit gemäß:

$$m_{Analyt} = \int_{t_0}^{t_e} \frac{I_{Analyt}(t)}{I_{Rh}(t)} \cdot \frac{v \cdot z \cdot c_{Rh}}{RSF_a} \cdot dt$$

mit :  $m_{Analyt}$  : absolute Menge des Analyten

$I_{Analyt}$  : zeitabhängiges Messsignal des Analyten

$I_{Rh}$  : zeitabhängiges Messsignal des Rhodiums

$v$  : Fließgeschwindigkeit der Rhodium Lösung

$z$  : Zerstäubereffizienz

$c_{Rh}$  : Konzentration der Rhodiumlösung

$RSF_{Analyt}$  : relativer elementspezifischer Empfindlichkeitsfaktor

Durch diese Relativmethode werden somit auch Intensitätsschwankungen, beispielsweise durch Plasmasveränderungen oder nachlassende Detektortätigkeit bedingt, die im Verlaufe einer Messreihe auftreten können, berücksichtigt.

Das Vermessen von Blindwerten ist eine notwendige Technik zur Qualitätskontrolle von chemischen Analysen und liefert Informationen über die zu berücksichtigenden Einflüsse auf die zu analysierenden Stoffe. Dabei wird das gesamte analytische Verfahren ohne Probenzugabe durchlaufen. Treten Blindwerte auf, erfolgt eine entsprechende Korrektur der Ergebnisse.

Die hier angewandte Hydridgenerierung ist durch die Blindwertproblematik des  $\text{NaBH}_4$  geprägt. Unterschiedliche Verfahren zu dessen Reinigung wurden von Grüter et al. [2001] entwickelt und angewandt. Es konnte eine fast vollständige Reduktion der Blindwerte erzielt werden, jedoch nahmen die Reinigungsschritte des  $\text{NaBH}_4$  mindestens einige Tage in Anspruch.

Eine Handhabung der Blindwertproblematik wird durch die Subtraktion der im Blindwert detektierten Verbindungen von denen in der Probe nachgewiesenen, erreicht.

Die in dieser Arbeit vorgestellte Kopplung ermöglicht die Durchführung von Übersichtsanalysen, u.a. für humane Ausscheidungen und Körperflüssigkeiten im unteren Picogramm-Bereich, wobei die semiquantitative Bestimmung von Metall- und Metalloidspezies in einem Toleranzbereich von  $\pm 30\%$  möglich ist [Feldmann 1997].

Die Nachweisgrenzen der einzelnen Elemente sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Element	$^{73}\text{Ge}$	$^{75}\text{As}$	$^{77}\text{Se}$	$^{120}\text{Sn}$	$^{121}\text{Sb}$	$^{126}\text{Te}$	$^{127}\text{I}$	$^{202}\text{Hg}$	$^{208}\text{Pb}$	$^{209}\text{Bi}$
NWG [pg]	0,6	0,2	0,6	0,2	0,1	0,6	0,3	0,1	0,4	0,1

Tabelle 1 Absolute Nachweisgrenzen der Metalle und Metalloide

Die Nachweisgrenzen wurden über die Bestimmung der dreifachen Standardabweichung des Blindwertes in Bezug zur jeweiligen elementabhängigen Analysenfunktion und der Detektorempfindlichkeit ermittelt.

## ***Angewandter Teil***

Die Anforderung an die Analyse einer biologischen Probe ist von den jeweils für die klinische Diagnostik, die Toxizitätsbeurteilung, die Kontrolle der Umweltverschmutzung, die Nahrungsmittelüberwachung oder die gerichtsmedizinische Untersuchung benötigten Informationen abhängig.

Während sich der überwiegende Teil der chemischen Untersuchungen von Ausscheidungen oder Körperflüssigkeiten des menschlichen Organismus mit der Bestimmung der Gesamtgehalte der Elemente befasst, ist die Kenntnis der vorliegenden chemischen Form und des Oxidationszustandes der in der Probe enthaltenen Elemente für die oben genannten Beurteilungen unabdingbar.

Die Bestimmung der Gesamtgehalte der in Blut- und Urinproben enthaltenen Elemente ist etabliert, ebenfalls existieren viele analytische Methoden für die Speziierung eines ausgewählten Elementes. So dominiert beispielsweise im Hinblick auf den Humanurin die Speziierung von Antimon, Arsen und Selen [Apostoli 1999], jedoch sind Analysemethoden wie die hier vorgestellte HG/LT-GC/ICP-MS-Kopplung, die einen simultanen Nachweis von insgesamt 44 Verbindungen der Elemente Antimon, Arsen, Bismut, Blei, Germanium, Iod, Quecksilber, Selen, Tellur und Zinn innerhalb von 20 Minuten in biologischen Matrices ermöglicht, wenig verbreitet.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Speziierung der genannten Elemente in den Körperflüssigkeiten Urin und Blut, aber auch in den bisher kaum auf metall- und metalloïdorganische Verbindungen hin analysierten klinischen Matrices Atem, Haar, Speichel und Stuhl gezeigt. Dabei gelang sowohl die Bestimmung von Basiskonzentrationen in Proben unbelasteter Personen, als auch die Konzentrationsermittlung für kontaminierte Proben nach Inkorporation belasteter Nahrungsmittel.

Erstmalig wurden Spezies wie Dimethylschwefelselen, Dimethyldiselen und Trimethylarsen im Urin, Telluridhydrid im Stuhl oder Trimethylbismut in der Atemluft und Spezies der Elemente Antimon, Arsen, Quecksilber und Zinn in Kopfhhaarproben nachgewiesen.



In biologischen Proben existieren eine große Anzahl metall- und metalloorganischer Verbindungen. Thayer et al. [1998] spezifizierten diesen umfassenden Bereich durch die Unterteilung in drei generelle Gebiete. Dabei bestehen die biologischen Proben aus Material terrestrischer und aquatischer Pflanzen, gelöstem aquatischen organischen Material und Algen. Die Nahrungsmittel und ihre Analoga bilden einen zweiten, während die klinischen Proben mit tierischem und humanem Gewebe, Organen, Haar, Muskeln, Knochen, Blut, Stuhl und Urin den dritten Bereich darstellen.

Im Zuge der vorliegenden Arbeit erfolgte die Analyse von Proben aus den beiden letztgenannten Bereichen.

Tabelle 2 stellt eine Übersicht der in der Literatur genannten Gesamtkonzentrations-einstufungen einiger Elemente im Blut, Urin und im Haar unbelasteter Personen dar.

Matrix Element	Urin <i>Literaturangabe</i>	Blut <i>Literaturangabe</i>	Haar <i>Literaturangabe</i>
Germanium	< 0,5 µg/L <i>Roels 2001</i>	keine Angaben	keine Angaben
Selen	< 100 µg/L <i>Gammelgaard 2000</i>	< 200 µg/L <i>Sabe 2000a</i>	< 7 mg/kg <i>Leung 2000</i>
Arsen	< 20 µg/L <i>Le 2000b</i>	< 5 µg/L <i>Buratti 1984</i>	< 1 mg/kg <i>Leung 2000</i>
Antimon	< 1 µg/L <i>Krachler 2001</i>	< 500 µg/L <i>Leung 2000</i>	keine Angaben
Zinn	< 10 µg/L <i>Leung 2000</i>	< 0,55 µg/L <i>Krachler 1999</i>	keine Angaben
Quecksilber	< 0,5 µg/L <i>White 1998</i>	< 15 µg/L <i>Pope 1998</i>	< 2 mg/kg <i>Jian 2000</i>
Bismut	keine Angaben	< 0,25 µg/L <i>Krachler 1999</i>	keine Angaben
Blei	< 12 µg/L <i>White 1998</i>	< 40 µg/L <i>White 1998</i>	< 7,5 mg/kg <i>Babi 2001</i>

Tabelle 2 Konzentrationseinstufung einiger Elemente im Urin, Blut und Haar unbelasteter Personen

Durch die damit grob abgeschätzten Konzentrationsgrenzen ergibt sich für das Analysensystem eine erforderliche Nachweisgrenze im unteren  $\text{ng/m}^3$ -,  $\text{ng/L}$ - bzw.  $\text{ng/kg}$ -Bereich.

Das im Laufe dieser Arbeit verwendete ICP-MS erfüllt mit den in Tabelle 3 aufgeführten Nachweisgrenzen, angegeben für 10 L Gas, 4 mL Flüssigkeit und 1,5 g Feststoff, problemlos diese Anforderung an die Analyse klinischer Proben.

Element NWG	$^{73}\text{Ge}$	$^{75}\text{As}$	$^{77}\text{Se}$	$^{120}\text{Sn}$	$^{121}\text{Sb}$
$[\text{ng/m}^3]$	0,06	0,02	0,06	0,02	0,01
$[\text{ng/L}]$	0,15	0,05	0,15	0,05	0,03
$[\text{ng/kg}]$	0,4	0,13	0,4	0,13	0,07
Element NWG	$^{126}\text{Te}$	$^{127}\text{I}$	$^{202}\text{Hg}$	$^{208}\text{Pb}$	$^{209}\text{Bi}$
$[\text{ng/m}^3]$	0,06	0,03	0,01	0,04	0,01
$[\text{ng/L}]$	0,15	0,08	0,03	0,1	0,03
$[\text{ng/kg}]$	0,4	0,2	0,07	0,27	0,07

Tabelle 3 Nachweisgrenzen der Metalle und Metalloide in definierten Probenmengen

Tabelle 4 führt alle 44 Spezies, deren Nachweis mittels der HG/LT-GC/ICP-MS-Kopplung möglich ist, und ihre zugehörigen Retentionszeiten und Siedepunkte auf.

Spezies	RT [min]	Sdp [°C]	Literatur- quelle	Spezies	RT [min]	Sdp [°C]	Literatur- quelle
GeH <sub>4</sub>	1,56 ± 0,08	- 88,5	Thayer 1995	SbH <sub>3</sub>	2,72 ± 0,14	- 17	Thayer 1995
(CH <sub>3</sub> )GeH <sub>3</sub>	2,69 ± 0,15	- 23,5	Thayer 1995	(CH <sub>3</sub> )SbH <sub>2</sub>	4,64 ± 0,16	41	Thayer 1995
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> GeH <sub>2</sub>	3,80 ± 0,21	6,5	Thayer 1995	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SbH	6,59 ± 0,21	60,7	Thayer 1995
(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> GeH	5,48 ± 0,14	26	Thayer 1995	(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> Sb	8,13 ± 0,17	80,6	Weast 1988
				(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )SbH <sub>2</sub> *		100	Gmelin 1981
AsH <sub>3</sub>	2,09 ± 0,09	- 55	Weast 1988				
(CH <sub>3</sub> )AsH <sub>2</sub>	3,71 ± 0,17	2	Weast 1988	TeH <sub>2</sub>	3,21 ± 0,16	- 4	Dedina 1995
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> AsH	5,36 ± 0,31	35,6	Weast 1988	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Te	8,70 ± 0,14	83	Stadler 1998
(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> As	6,24 ± 0,23	70	Weast 1988				
(CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> As <sub>2</sub>	10,24 ± 0,14	120	Jones 1918	(CH <sub>3</sub> )I	5,27 ± 0,20	42,4	Weast 1988
(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub> As	11,23 ± 0,19	140	Weast 1988				
(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )AsH <sub>2</sub>	13,43 ± 0,07	148	Thayer 1995	Hg <sup>0</sup>	3,24 ± 0,16	k. A.	
				(CH <sub>3</sub> )HgH?	5,66 ± 0,59	k. A.	
(CH <sub>3</sub> )SeH	4,66 ± 0,29	- 26	Stadler 1998	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Hg	8,89 ± 0,08	96	Weast 1988
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Se	6,44 ± 0,18	58	Stadler 1998	(CH <sub>3</sub> )(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )Hg	10,76 ± 0,22	127,4	Thayer 1995
(CH <sub>3</sub> )SSe(CH <sub>3</sub> )	10,85 ± 0,57	132	Stadler 1998				
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Se <sub>2</sub>	12,06 ± 0,58	156	Stadler 1998	(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> PbH?	9,82 ± 0,29	k. A.	
				(CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> Pb	10,40 ± 0,22	110	Jones 1918
SnH <sub>4</sub>	2,11 ± 0,10	- 52	Thayer 1995	(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>4</sub> Pb*	12,63 ± 0,05	200	Jones 1918
(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> SnH <sub>3</sub>	3,44 ± 0,19	1,4	Thayer 1995				
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub>	5,01 ± 0,22	35	Thayer 1995	BiH <sub>3</sub>	3,70 ± 0,16	17	Weast 1988
(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> SnH	6,84 ± 0,35	59	Thayer 1995	(CH <sub>3</sub> )BiH <sub>2</sub>	5,56 ± 0,28	72	Weast 1988
(CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> Sn	8,64 ± 0,25	78	Finnholt 1947	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> BiH	8,30 ± 0,19	85	Weast 1988
(C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> )SnH <sub>3</sub>	9,19 ± 0,17	99	Gill 1987	(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> Bi	9,50 ± 0,07	106	Weast 1988
(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub> SnH*	12,12 ± 0,09	149	Gmelin 1978				
(C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ) <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub>	12,31 ± 0,15	190	Thayer 1995				
(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>3</sub> SnH*	12,79 ± 0,25	130	Gmelin 1978				
(C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ) <sub>3</sub> SnH	18,16 ± 0,09	250	Thayer 1995				

k.A.= keine Angabe

- Identifizierung anhand von Standardverbindungen
- Identifizierung anhand der Siedepunkt/Retentionszeitkorrelation
- Identifizierung anhand der Molekulargewicht/Retentionszeitkorrelation
- \* bisher nicht in Realproben nachgewiesen

Tabelle 4 Retentionszeiten und Siedepunkte der mittels der angewandten HG/LT-GC/ICP-MS-Kopplung nachweisbaren Spezies

Die Retentionszeitermittlung der Spezies geschah zum Großteil mittels vorliegender Standardverbindungen, wobei sich deren Toleranzbereich aus der Standardabweichung der erhaltenen Retentionszeiten ergibt. Die mit (\*) gekennzeichneten Verbindungen konnten bisher nicht in Realproben nachgewiesen werden. Jedoch wurden acht weitere bisher nicht identifizierbare Verbindungen der Elemente Arsen, Blei, Germanium, Quecksilber und Selen in Realproben sowohl aus dem klinischen Bereich als auch in Deponien, Bioreaktoren und Sedimenten detektiert.

Die Abschätzung des Siedepunktes einer unbekannten Verbindung gelingt durch Einsetzen der erhaltenen Retentionszeit in die Gleichung der Siedepunkt/Retentionszeitkorrelation, die in *Abschnitt 2.5* dargestellt ist. Durch die Anwendung dieses Verfahrens wird ein Hinweis auf die vorliegenden Verbindungen erhalten, der nun anhand des Vermessens einer Reinverbindung mittels GC/MS verifiziert werden kann.

Die in der vorliegenden Arbeit angewandte Derivatisierungstechnik unterscheidet bei der Überführung der Verbindungen in ihre korrespondierenden flüchtigen Hydride nicht zwischen penta- und trivalenten Antimon- und Arsenspezies. Die pentavalenten Komponenten werden bei der Hydrierung mit  $\text{NaBH}_4$  bei pH-Werten  $\leq 1$  zu trivalenten Spezies reduziert [Dodd et al. 1992], wobei es selbst bei einem pH-Wert  $> 5$  zur Bildung flüchtiger Hydride der trivalenten Arsenspezies  $\text{As}^{\text{III}}$ ,  $\text{MMA}^{\text{III}}$  und  $\text{DMA}^{\text{III}}$  kommen würde [Gong et al. 2001].

Das gesamte anorganisch vorliegende Antimon und Arsen wird als  $\text{SbH}_3$  bzw.  $\text{AsH}_3$  nachgewiesen.

Die nicht hydridbildenden Verbindungen Arsenobetain, Arsenocholin und die Arsenzucker werden bei der angewandten Technik nicht nachgewiesen, somit ermöglicht die Hydrierung bezüglich des Arsens eine Separation der toxisch relevanten (Hydridbildner) von den toxisch nicht relevanten (Nicht-Hydridbildner) Verbindungen.

Die Anwendung der Flüssigkeitschromatographie als Trennungstechnik würde einen Nachweis der nicht hydridbildenden Spezies ermöglichen, jedoch geschieht dies unter Einbußen bei den Nachweisgrenzen, die für die HPLC bis zu einer Größenordnung über den hier erreichten liegen.

Das Vermeiden von Kontaminationen und Analytverlusten bei der Probennahme und deren Bearbeitung, wie auch die Gewährleistung der Stabilität der Verbindungen während der Lagerung bildet die Grundvoraussetzungen für die Zuverlässigkeit der Ergebnisse bei der Spuren- und Ultrapurenspeziesanalytik.

Auf die Lagerung und Bearbeitung der hier analysierten klinischen Proben wird in den jeweiligen Kapiteln näher eingegangen.

Zur Absicherung der Probenbearbeitung bezüglich der Kontaminationsvermeidung erfuhren alle Laborglasgeräte eine 24-stündige Behandlung in einem 7 %-igen Phosphorsäurebad zur Neutralisation der Glasoberfläche.

Nach jeder Analyse erfolgte ein Austausch der Glasgeräte und Injektionsspritzen. Sämtliche Analysen wurden als Doppelbestimmung durchgeführt.

### 3 *Urin*

Bei den in der vorliegenden Arbeit analysierten Harnproben handelt es sich um Morgenurine, die als Mittelstrahlurine gewonnen wurden. Hierbei wird der erste Strahl des Urins verworfen, der Mittelstrahl aufgefangen und als Untersuchungslösung verwendet.

Bei der Hydrierung der Urine betrug das Probenvolumen 4 mL, welches mit 4 mL *Seralpur* verdünnt wurde. Harnproben besitzen einen pH-Wert von 5,5, mittels 3 %-iger Salzsäure wurde die Einstellung der vorliegenden Probenlösungen auf einen pH-Wert  $\leq 1$  vorgenommen. Anschließend erfolgte die kontrollierte Zugabe von 1 mL  $\text{NaBH}_4$  über ein Septum in die geschlossene Apparatur.

Da die Zersetzung des  $\text{NaBH}_4$  und die Bildung der flüchtigen Hydride innerhalb weniger Mikrosekunden stattfinden, gewährleistet das Einbringen des Hydrierungsreagenzes in das geschlossene System ein verlustfreies Arbeiten.

#### 3.1 *Methodische Studien*

Im Rahmen der Entwicklung und Optimierung des hier angewandten Hydridgenerierungsverfahrens wurde die Überführungszeit der flüchtigen Verbindungen aus der Probenlösung in das Adsorptionsröhrchen durch den Heliumstrom und den entstehenden Wasserstoff auf zehn Minuten festgelegt [Grüter und Kresimon 2000].

Für die Bewertung der Ergebnisse der Analyse der klinischen Proben von Wichtigkeit ist die Kenntnis, ob in dieser Zeit ebenfalls eine quantitative Überführung der in diesen Proben vorhandenen Spezies erreicht wird.

Die Durchführung dieser methodischen Studien anhand der klinischen Matrix Urin soll im Folgenden erläutert werden.

### 3.1.1 Verhalten metall- und metalloidorganischer Verbindungen beim „Purgen“ und Hydrieren

Im Anschluss an eine Hydrierung wurde die Urinprobenlösung im Reaktionsgefäß belassen, eine neue Trap eingebunden und für weitere zehn Minuten Helium durch die Probenlösung geleitet. Die Gehalte der nachgewiesenen Spezies zeigt Tabelle 5.

Spezies	Gehalt 1. Trap [ng]	Gehalt 2. Trap [ng]	gesamte überführte Menge [ng]	Anteil der 2. Trap [%]
Me <sub>2</sub> AsH	1	0,1	1,1	9
SnH <sub>4</sub>	2	0,01	2,01	1
Bu <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub>	-	0,03	0,03	100
Bu <sub>3</sub> SnH	-	0,01	0,01	100

Tabelle 5 Gehalte nachgewiesener Spezies beim Hydrieren und nach einer weiteren Überführungszeit von zehn Minuten

Hierbei konnten Dimethylarsen mit einem durchschnittlichen Anteil von 9 % an der gesamten überführten Menge und anorganisches Zinn mit einem Anteil von 1 % nachgewiesen werden, wobei letzterer als vernachlässigbar gering betrachtet wird.

Das in Wasser unlösliche [Craig 1986] und dementsprechend aus wässrigen Medien quantitativ austreibbare DMA scheint hier an organische Bestandteile der Urinmatrix gebunden vorzuliegen. Das Durchleiten des Heliumstromes durch die Probenlösung bewirkt eine Lockerung oder Lösung der Bindung und eine Ausleitung des DMA.

Ferner wurden Di- und Tributylzinn in der zweiten Trap nachgewiesen, die bei einer Überführungszeit von zehn Minuten nicht detektiert werden konnten. Dies liegt in der Schwerflüchtigkeit der mehrfach butylierten komplex in der Urinmatrix gebundenen Verbindungen begründet. Die Bildung ihrer Hydride und die Überführung in das Adsorptionsröhrchen geschieht langsamer als bei den leichter flüchtigen Verbindungen.

Eine Erwärmung der Reaktionslösung würde das Austreiben der butylierten Verbindungen fördern, allerdings birgt dies die Gefahr des Zerfalls instabiler Spezies.

Die Absicherung des semiquantitativen Nachweises der Methode gelingt entsprechend *Abschnitt 2.5* bei allen Spezies mit Retentionszeiten bis zehn Minuten. Ferner ist die Identifizierung aller zu einem späteren Zeitpunkt von der chromatographischen Säule desorbierenden Verbindungen, wie den butylierten Zinnverbindungen, gewährleistet.

Darüber hinaus wurde die Überführung von im Urin vorliegenden Verbindungen bei Durchleiten eines Trägergases ohne vorherige Hydrierung untersucht. Hierbei konnte lediglich die Anwesenheit von anorganischem Antimon mit einer Konzentration von durchschnittlich 2 ng/L festgestellt werden, welches nach anschließender Hydrierung der Urinproben nicht mehr nachgewiesen werden konnte.

### **3.1.2 Zugabe von Standardsubstanzen zu Urinproben**

Bei der Hydrierung mittels  $\text{NaBH}_4$  entstehen unter sauren Reaktionsbedingungen aus den Verbindungen Trimethylantimondichlorid ( $\text{Me}_3\text{SbCl}_2$ ) und Trimethylarsenoxid (TMAO) durch Reduktion die flüchtigen Verbindungen  $\text{Me}_3\text{Sb}$  und  $\text{Me}_3\text{As}$  [Vather 1994].

Das Auftreten dieser Reduktionen wurde durch Zusetzen von je 0,1 ng  $\text{Me}_3\text{SbCl}_2$  und TMAO zu der sauren Probenlösung des Urins vor der Zugabe des  $\text{NaBH}_4$  nachvollzogen. Der in den Urinproben nachgewiesene Gehalt des methylierten Arsens und Antimons beträgt 0,02 ng bzw. 0,01 ng.

Die Reduktion der pentavalenten Spezies konnte in der Urinmatrix mit Wiederfindungsraten von 20 % für das Arsen, bzw. 10 % für das Antimon gezeigt werden.

Dies deutet darauf hin, dass ein bedeutender Teil der der klinischen Matrix zugesetzten metall(oid)organischen Verbindungen nicht reduziert oder nach der Reduktion nicht in das Adsorptionsröhrchen überführt wird, sondern in der Matrix des Urins verbleibt.

Weiterhin wurden die Wiederfindungsraten von ethylierten und phenylierten Verbindungen bestimmt. Dies diente der Beurteilung des Einflusses der Matrix Urin auf flüchtige peralkylierte ( $\text{Et}_3\text{As}$ ), höher siedende ethylierte ( $\text{Et}_3\text{SnH}$  und  $\text{EtHgH}$ ) und



sterisch anspruchsvolle Liganden besitzende ( $\text{PhAsH}_2$ ) Spezies bei der Hydrierung und Analyse der Probe.

Die Urinproben wurden mit 0,1 ng Phenylarsensäure (PAA) und je 0,2 ng  $\text{Et}_3\text{As}$ ,  $\text{Et}_3\text{SnCl}$  und  $\text{EtHgCl}$  versetzt und bei einem pH-Wert von 1 hydriert.

Die als Chloride eingesetzten Standardverbindungen erfahren durch die Hydrierung eine Substitution des Chlors unter Überführung in ihre korrespondierenden Hydride.

In Tabelle 6 sind die entsprechenden Wiederfindungsraten (WFR) aufgeführt.

	$\text{Et}_3\text{As}$	$\text{PhAsH}_2$	$\text{Et}_3\text{SnH}$	$\text{EtHgH}$
Gehalt [ng]	0,2	0,02	0,001	< 0,0001
WFR [%]	100	20	0,5	0

Tabelle 6 Wiederfindungsraten der einer Urinprobe zugesetzten Spezies

Während die Überführung des unpolaren  $\text{Et}_3\text{As}$  durch seine hohe Flüchtigkeit erklärt werden kann, müssen für die geringen Wiederfindungsraten der anderen Spezies unvollständige bis kaum ablaufende Hydrierungen in der Urinmatrix angenommen werden. Die vollständige Reduktion der PAA in der Matrix ist ebenfalls nicht bestätigt, so dass insgesamt bei der Beurteilung der Messergebnisse eine mindestens unvollständige Derivatisierung der Probenbestandteile berücksichtigt werden sollte.

### 3.1.3 Bestimmung der Standardabweichung

Die hier vorgestellte analytische Methode ermöglicht nach Feldmann [1995] eine semiquantitative Bestimmung der metall- und metalloorganischen Verbindungen in einem Toleranzbereich von  $\pm 30\%$ .

Ihre Anwendbarkeit auf klinische Matrices soll nun anhand der Matrix Urin durch die Bestimmung der Standardabweichung überprüft werden.

Die Präzision einer Analyse wird durch Wiederholungsmessungen zu einer Probe und Berechnung einer Abweichung vom Mittelwert bestimmt, wobei die Standardabweichung ein Maß für die Streuung der Messwerte um den Mittelwert ist.

Die Standardabweichung in % erhält man durch Division der Standardabweichung durch den Mittelwert und Multiplikation mit dem Faktor 100 [Otto 1995]. Die Tabelle A1 des Anhangs führt im Einzelnen die Konzentrationen für die in einer achtmalig analysierten Urinprobe nachgewiesenen Komponenten auf. Die resultierenden Standardabweichungen der einzelnen Spezies zeigt Tabelle 7.

Spezies	GeH <sub>4</sub>	AsH <sub>3</sub>	MeAsH <sub>2</sub>	Me <sub>2</sub> AsH	Me <sub>3</sub> As	Me <sub>2</sub> Se <sub>2</sub>
Standardabweichung [%]	23	24	24	31	17	50
Spezies	SnH <sub>4</sub>	MeSnH <sub>3</sub>	Me <sub>3</sub> SnH	BuSnH <sub>3</sub>	MeHgH	
Standardabweichung [%]	10	25	29	1	25	

Tabelle 7 Standardabweichungen für die in einer Urinprobe nachgewiesenen Spezies

Die Standardabweichungen liegen, mit Ausnahme der des Dimethyldiselens, im Rahmen des von Feldmann angegebenen Fehlerbereichs. Damit ist die Reproduzierbarkeit der Analysenmethode für die Größenordnung der Konzentrationen der Verbindungen in der Urinmatrix gewährleistet.

### 3.1.4 Standardaddition einer Monobutylzinnspezies

Ferner sollte die zur Bestimmung der Analytgehalte verwendete Interelement-Interaggregat-Kalibrierung (IIK) mit der Standardadditions- als Kalibriermethode verglichen werden. Bei der üblicherweise angewendeten externen Kalibrierung wird die Kalibrierfunktion separat anhand einer Verdünnungsreihe erstellt, dies ist jedoch aus den in *Abschnitt 2.6* erläuterten wie auch aus zeitlichen Gründen nicht für jede Multielement-Multispezies-Analyse durchführbar. Die Standardadditionsmethode nach DIN 32633 [1998] arbeitet mit der Aufstockung definierter Konzentrationen eines in der zu untersuchenden Probe enthaltenen Analyten.

Diese Aufstockung soll anhand der Matrix Urin und der darin enthaltenen Verbindung Butylzinn nachvollzogen werden. Dazu wurde der Urin eines unbelasteten Probanden über eine Dreifachbestimmung ohne Aufstockung und über eine Vierfachbestimmung bei Addition von 0,1, 0,2 und 0,5 ng BuSnCl<sub>3</sub> analysiert.

Jede zu den aufgestockten Proben ermittelte Fläche des SnBuH<sub>3</sub>-Peaks enthält neben der zugesetzten auch die unbekannte Probenkonzentration, was zu einer Verschiebung der Analysenfunktion ( $y = a \cdot x + b$ ) um deren Wert führt. Zur Ermittlung der eigentlichen Probenkonzentration muss der Schnittpunkt der Funktion mit der x-Achse berechnet werden.

Dazu wird der Messwert, der ohne Standardzusatz erhalten wurde ( $b$ ), durch die Steigung der Geraden ( $a$ ) dividiert [Otto 1995].

Für die Analysenfunktion wurde folgende Gleichung mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,98 erhalten:

$$y = 52,663 \cdot x + 656$$

Die Analysenkonzentration  $x$  berechnet sich daraus zu 12,5 ng/L, die graphische Darstellung der Standardaddition zeigt Abbildung 13.

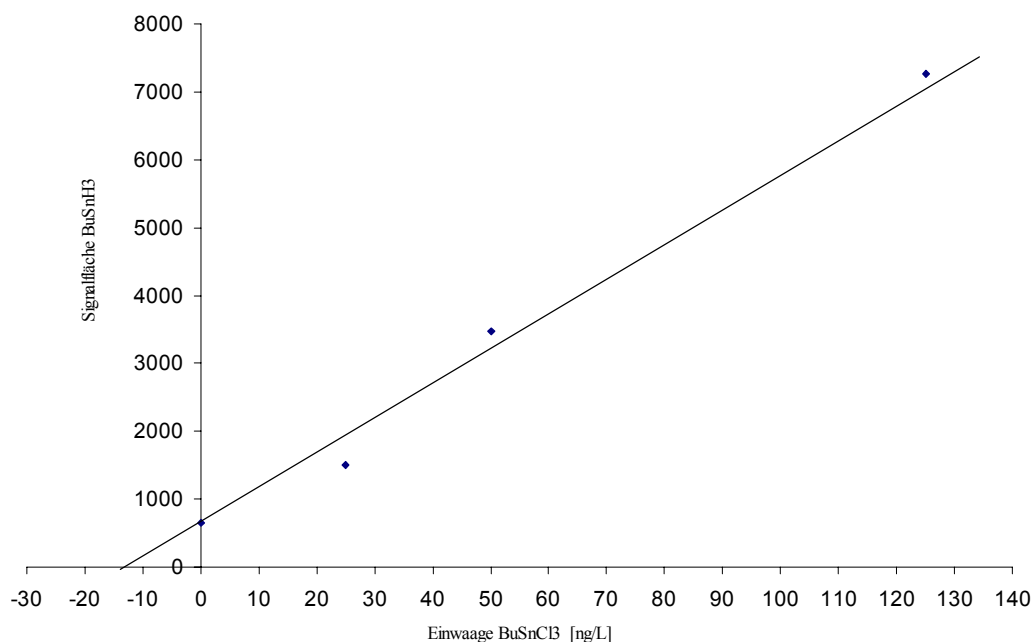


Abbildung 13 Standardaddition von BuSnCl<sub>3</sub> zu einer Urinprobe

Die über die IIK-Methode ermittelten Konzentrationen der aufgestockten Urinproben zeigt Tabelle 8.

BuSnH <sub>3</sub> [ng/L]	12	37,5	62,5	137,5
BuSnH <sub>3</sub> über IKK ermittelt [ng/L]	1	9	19	25
WFR [%]	8	24	30	18

Tabelle 8 Addition von BuSnCl<sub>3</sub> zu einer Urinprobe

Während sich die Konzentration des Butylzinns in der reinen Urinprobe über die IIK-Methode zu 1 ng/L berechnet, erhält man bei deren Ermittlung über die Standardadditionsmethode eine Konzentration von 12,5 ng/L.

Zu berücksichtigen ist, dass bei der Anwendung der Standardadditionsmethode nur das Flächenintegral für den jeweilig erhaltenen Butylzinnpeak betrachtet wird. Eventuelle Empfindlichkeitsschwankungen des Messsignals bleiben hierbei unberücksichtigt.

Die IIK-Methode hingegen bezieht durch die Verwendung eines internen Standards Intensitätsschwankungen, beispielsweise durch Plasmaveränderungen oder nachlassende Detektionseffizienz bedingt, die im Verlaufe einer Messreihe auftreten können, mit in die Berechnung ein und stellt somit für die Multielement-Multispeziesbestimmung eine in dieser Hinsicht besser geeignete und effektivere Quantifizierungsmethode dar.

Ferner muss die Hydriereffizienz berücksichtigt werden. Die zugesetzte Menge an NaBH<sub>4</sub> kann bei einer größeren Menge BuSnCl<sub>3</sub> nicht zu dessen vollständiger Hydrierung ausreichen [Guo et al. 1997].

Bezüglich der Standardaddition würde ein größeres Flächenintegral für die 125 ng BuSnCl<sub>3</sub> /L Urin in einem steileren Verlauf der Geraden resultieren und demzufolge eine geringere Konzentration bei der Extrapolation bedingen.

### 3.1.5 Analyse der Matrix Urin

Zur weiteren Charakterisierung der Matrix Urin erfolgte die Analyse von Harnproben mittels der Anionenaustauschchromatographie.

Bei der Ionenchromatographie wird die flüssige Probe im Gegenstrom in die mobile Phase vor deren Eintritt in die chromatographische Säule injiziert. Die mobile Phase passiert nun die mit einer stationären Phase beladene Säule. Dabei gehen die Anionen der vorgelegten Probe mit den Anionenaustauschgruppen der Säule unterschiedlich starke Wechselwirkungen ein, erfahren so eine unterschiedliche Verweildauer in dem chromatographischen System und verlassen die Säule nach unterschiedlichen Retentionszeiten. Die Detektion der Ionen erfolgt durch Messung ihrer Leitfähigkeit. Durch vorherige externe Kalibrierung mit den entsprechenden Anionen sind die jeweiligen Retentionszeiten bekannt und die Konzentrationen der Analyte bestimmbar.

Der Urin eines unbelasteten Probanden wurde eine Stunde nach der Probennahme über eine Dreifachbestimmung analysiert, die erhaltenen Konzentrationen der Anionen Fluorid, Chlorid, Nitrat, Sulfat und Phosphat zeigt Tabelle 10. Die Nachweisgrenze dieser Methode liegt bei 0,5 mg/L.

Anionen	Fluorid	Chlorid	Nitrat	Sulfat	Phosphat
Konzentration [g/L]	0,07	2,5	0,07	1,3	0,8

Tabelle 9 Konzentrationen der in der Matrix Urin nachgewiesenen Anionen

Ein gesunder Mensch scheidet täglich zwischen 0,5 und 2,5 L Urin aus. Der pH-Wert des Urins liegt in einem Bereich von 5,6 bis 7. Die Menge eines über den Urin ausgeschiedenen anorganischen Stoffes wie Chlorid, Fluorid, Bromid und Nitrat entspricht im Allgemeinen der dem Organismus zugeführten Menge.

Die Normalwerte der Fluorid- und Nitratausscheidung mit dem Urin liegen im Bereich von 10 bis 30 mg/L. Das Chlorid regelt mit einer Vielzahl anderer Faktoren die Wasserverteilung in den Körperräumen und wird über die Nahrung als Kochsalz

aufgenommen. Die durchschnittliche Konzentration des Chlorids im Harn liegt im Bereich von 2,4 bis 4,8 g/L. Das Sulfat stellt ein Abbauprodukt der Aminosäuren Methionin und Cystein dar und wird durchschnittlich zu 0,9 bis 1,7 g/L über den Urin ausgeschieden.

Das Phosphat dient als Baustein vieler wichtiger Moleküle im Organismus und ist im Säure-Basen-Haushalt die wichtigste Puffersubstanz. Die Konzentration des Phosphats im Urin liegt im Bereich von 0,8 bis 1,9 g/L. [Löffler und Petrides 1988]

Demzufolge liegen alle in der Urinprobe nachgewiesenen Konzentrationen der Anionen im Normalbereich.

Eine weitere Analyse der Matrix Urin wurde über die Lösungsanalytik des ICP-MS zur Bestimmung der Gesamtgehalte der Elemente Antimon, Arsen, Bismut, Blei, Germanium, Iod, Quecksilber, Selen, Tellur und Zinn durchgeführt. Die löslichen Bestandteile des über einen 2µ-Filter geleiteten Urins wurden dem ICP-MS als verdünnte Lösung zugeführt. Die Kalibrierung erfolgte extern, die in der Urinprobe nachgewiesenen Konzentrationen sind in Tabelle 10 aufgeführt.

Element	<sup>73</sup> Ge	<sup>75</sup> As	<sup>77</sup> Se	<sup>120</sup> Sn	<sup>121</sup> Sb
Konzentration [µg/L]	< 10,7	380	< 15,4	< 2,7	0,8
Konzentration [µg/L] nach Matrixkorrektur	< 10,7	< 0,8	< 15,4	< 2,7	< 0,8
Element	<sup>126</sup> Te	<sup>127</sup> I	<sup>202</sup> Hg	<sup>208</sup> Pb	<sup>209</sup> Bi
Konzentration [µg/L]	< 3,4	41	< 1,6	< 0,5	1
Konzentration [µg/L] nach Matrixkorrektur	< 3,4	41	< 1,6	< 0,5	1

Tabelle 10 Konzentrationen der im Urin mittels ICP-MS-Lösungsanalytik nachweisbaren Elemente

Bei der direkten Zufuhr des Urins in das ICP-MS kann es bei der Verwendung des Betriebsgases Argon bedingt durch die vorliegende Matrix des Urins zu isobaren Interferenzen kommen. Das monoisotopische Element Arsen wird auf dem Masse-Ladungs-Verhältnis  $m/e$  75 detektiert. Diese Detektion wird in Anwesenheit größerer Mengen Chlor durch die Bildung der Molekülonen  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$  gestört und führt zum Nachweis überhöhter Konzentrationen auf der Masse 75 (isobare Interferenz).

Falls eine Chlorinterferenz auf diesem Masse-Ladungs-Verhältnis existiert, muss diese sich ebenfalls für das  $m/e$ -Verhältnis 77 ( $^{40}\text{Ar}^{37}\text{Cl}$ ) zeigen. Dabei sollten sich die Chlorsignale auf  $m/e$  75 und  $m/e$  77 in erster Näherung wie die relativen Häufigkeiten der natürlich vorkommenden Isotope  $^{35}\text{Cl}$  (75,8 %) und  $^{37}\text{Cl}$  (24,2 %) verhalten. Voraussetzung dafür ist jedoch die Abwesenheit von Selen  $m/e$  77, die über die wenig gestörte Masse  $^{82}\text{Se}$  überprüft werden kann. Weiterhin existiert in Anwesenheit einer Chloridmatrix und des Gases Krypton, welches im ICP-MS-Betriebsgas Argon enthalten ist, auf dem Masse-Ladungs-Verhältnis 121, das zur Detektion des Elements Antimon dient, eine Störung des Molekülonen  $^{84}\text{Kr}^{37}\text{Cl}$ . Das Vorliegen dieser Störung kann analog der des Arsens, in Abwesenheit von Zinn  $m/e$  119, welche über die Masse  $^{118}\text{Sn}$  überprüft werden kann, ermittelt werden.

Hierbei ist im Hinblick auf das Chlorid in der Urinprobe für die Elemente Arsen und Antimon eine Matrixkorrektur vorzunehmen.

Das Chloridion stellt im Humanurin einen mit 2,5 g/L in hoher Konzentration vorkommenden Matrixbestandteil dar und übertrifft die Konzentrationen der im Urin mittels ICP-MS bestimmten gelösten Arsen- und Antimonverbindungen um das  $10^4$ - bzw.  $10^6$ -fache. Bei dieser großen Konzentrationsüberlagerung des Chlors erübrigt sich die Matrixkorrektur, da die gesamte nachgewiesene Menge Arsen und Antimon durch die Molekülonen  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$  und  $^{84}\text{Kr}^{37}\text{Cl}$  induziert werden kann.

Die durchgeführte Lösungsanalytik des Urins ergab damit lediglich für die Elemente Iod und Bismut Konzentrationen von 41 bzw. 1  $\mu\text{g/L}$ .

Dies zeigt, dass sich das Gros der Analyten im Urin nicht in der löslichen Phase, sondern an Matrixbestandteile adsorbiert oder gebunden vorliegt. Zum Nachweis der Analyten muss ihr Lösen aus der Urinmatrix erfolgen; dies kann, wie in den folgenden Abschnitten gezeigt wird, durch Hydrierung der Proben erreicht werden.

### ***3.2 Bestimmung von Basisgehalten der im Urin vorliegenden metall- und metalloidorganischen Spezies anhand der Analyse von Urinproben der Bremer Bevölkerung***

Die im Rahmen dieser Basisgehaltsbestimmung analysierten 40 Urinproben stammen aus einer in den Jahren 1993 und 1994 in Bremen durchgeführten bevölkerungsbasierenden Querschnittsstudie zur Untersuchung des Zusammenhanges von Metallexposition und oxidativer DNA-Schädigung [Merzenich et al. 2001].

Die Urine von 18 Frauen und 22 Männern, darunter 6 Werftarbeiter, die mindestens zehn Jahre in diesem Beruf gearbeitet haben, mit einem Altersspektrum der Probanden von 40 bis 59 Jahren, wurden seit 1993 bei – 85 °C gelagert.

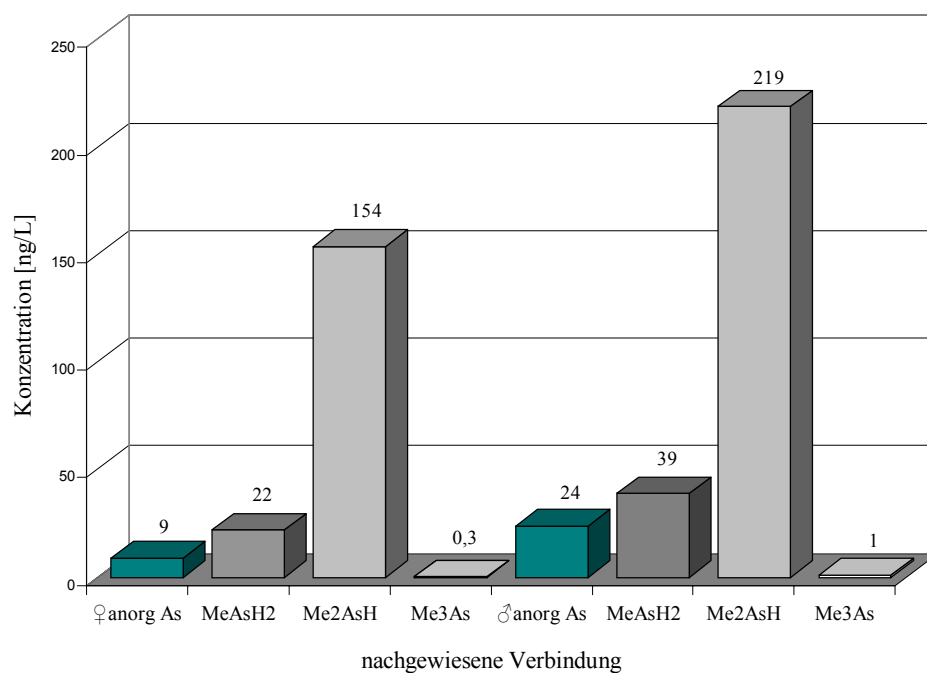
Lagerungstemperaturen zwischen -80 und -90 °C werden zur Langzeitkonservierung genutzt, in Humanproben konnte in diesem Temperaturbereich keine Veränderung der ursprünglich vorhandenen Spezies festgestellt werden [Peters 2002].

Die in den Urinproben detektierten metall- und metalloidorganischen Spezies sind in den Tabellen A2 bis A4 des Anhangs zusammengestellt.

Die Speziesanalyse in den Urinen von vier Werftarbeitern und zwei Frauen konnten auf Grund von Problemen bei der Hydridgenerierung nicht vollständig oder gar nicht durchgeführt werden. Bei der Zugabe des  $\text{NaBH}_4$  kam es zu einer ausgeprägten Schaumbildung, die ein Durchleiten des Heliumflusses zur Überleitung der entstandenen Hydride ohne Übertritt von Probenlösung in das Trockenrohr und das dahinter befindliche Adsorptionsröhrchen nahezu unmöglich machte. Diese Schaumentwicklung könnte durch das Vorhandensein von Proteinen in den Urinproben begründet sein, die auf Grund einer Nierenerkrankung oder bakteriellen Entzündung im Körper der Probanden vorlagen. Die bei der Durchführung einer Proteinanalyse erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle A6 des Anhangs aufgeführt. Da die zur Verfügung stehende Menge der Urinproben limitiert ist, konnte die Proteinbestimmung nicht in allen Urinen, darin enthalten die schaumbildenden, erfolgen und die Annahme des Vorliegens von Proteinen in den schäumenden Urinen nicht verifiziert werden. Die Ergebnisse der Proteinanalyse zeigen aber, dass bei einem Proteingehalt von 0,3 mg/ dL Urin die standardmäßige Durchführung der Hydridgenerierung nicht beeinträchtigt wird.



Die Abbildungen 14 bis 17 stellen den Vergleich der mittleren Konzentrationen, die Tabellen 11 bis 13 den Vergleich der prozentualen Verteilung der anorganischen und methylierten Verbindungen der Elemente Arsen, Antimon, Zinn und Quecksilber zwischen 16 Frauen und 16 Männern dar, wobei nur Spezies berücksichtigt wurden, die in mindestens  $\frac{1}{3}$  der Urinproben nachgewiesen werden konnten.



**Abbildung 14** Vergleich von Arsenspezieskonzentrationen im Urin von Frauen und Männern

	anorganisches As [%]	MMA [%]	DMA [%]	TMA [%]
Frauen	4,8	11,9	83,1	0,2
Männer	8,4	13,8	77,4	0,4

**Tabelle 11** Prozentuale Verteilung der hydrierbaren Arsenspezies im Urin von Frauen und Männern

In den Urinproben der Frauen und Männer konnte eine analoge Prozentualverteilung der hydrierbaren Arsenspezies festgestellt werden, die der in der Literatur angegebenen von bis zu 30 % anorganischem Arsen, 10 bis 20 % MMA und 60 bis 80 % DMA [Hakala und Pyu 1995, Kavanagh et al. 1998, Sur et al. 1999] entspricht, wobei nach Sur et al. der Anteil der hydridbildenden Arsenverbindungen bei unbelasteten Probanden unter 15 µg As/L Urin liegt.

Angaben über den Nachweis und die Konzentration von TMA im Urin sind nicht bekannt, die bezüglich der Urinmatrix publizierten Arsenspezifizierungsmethoden beziehen sich hauptsächlich auf die Spezies  $\text{As}^{\text{III}}$ ,  $\text{As}^{\text{V}}$ , AB, MMA und DMA.

In dieser Arbeit konnte erstmalig ein Vorliegen des TMA im Urin unbelasteter Probanden in 38 % der Proben gezeigt werden.

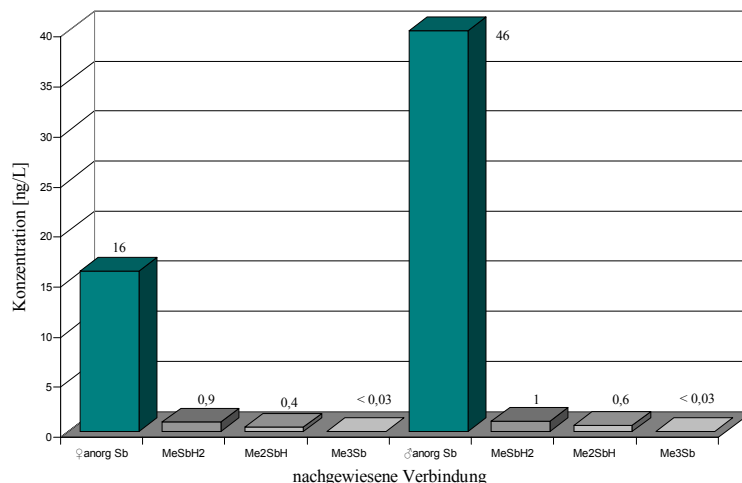
Die Tabelle A5 des Anhangs enthält für 30 Probanden dieser Studie Gesamtkonzentrationen der Elemente Arsen, Bismut, Germanium, Quecksilber, Selen und Zinn, die mittels direkter Zufuhr der verdünnten Urinproben in ein ICP-MS bestimmt wurden.

Die Konzentrationen befinden sich im unteren µg/L-Bereich, während die Gesamtkonzentrationen der hydrierbaren Verbindungen im ng/L-Bereich liegen.

Die nachgewiesene mittlere Arsenkonzentration der hydridbildenden Spezies liegen bei den Frauen mit 248 ng As /L 45 % niedriger als bei den Männern (449 ng As/L).

Diese Tendenz wurde ebenfalls bei den über die Lösungsanalytik des ICP-MS bestimmten Konzentrationen des Elementes Arsen festgestellt, wobei die der Männer durchschnittlich doppelt so hoch wie die der Frauen lagen.

Die Abbildung 15 stellt den Vergleich der Konzentrationen der hydrierbaren Antimonspezies im Urin von Frauen und Männern dar.



**Abbildung 15** Vergleich von Antimonspezieskonzentrationen im Urin von Frauen und Männern

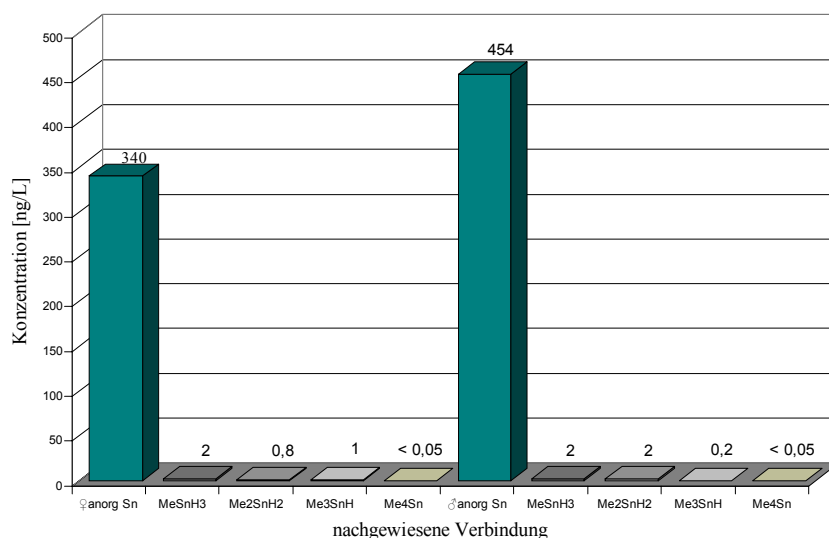
	anorganisches Sb [%]	MeSbH <sub>2</sub> [%]	Me <sub>2</sub> SbH [%]	Me <sub>3</sub> Sb [%]
Frauen	92,3	5,2	2,3	< 0,2
Männer	96,6	2,1	1,2	< 0,1

**Tabelle 12** Prozentuale Verteilung der hydrierbaren Antimonspezies im Urin von Frauen und Männern

Das anorganisch vorliegende Antimon bildet sowohl bei den Frauen als auch bei den Männern mit 92,3 % bzw. 96,6 % den überwiegenden Anteil des hydrierbaren Antimons. Mono- und dimethylierte Spezies konnten zu 7,5 % bzw. 3,3 % erstmalig im Urin nachgewiesen werden. Vergleichswerte liegen in der Literatur nicht vor.

Die Gesamtantimonkonzentration im Urin unbelasteter Probanden geben Krachler und Emons mit < 1 µg/L an und publizierten 2001 den ersten Nachweis von Antimonspezies im Urin, wobei die Trennung von Sb<sup>III</sup>, Sb<sup>V</sup> und Me<sub>3</sub>SbCl<sub>2</sub> mittels HPLC durchgeführt wurde. Über die Lösungsanalytik des ICP-MS konnte hier mit Nachweisgrenzen < 0,1 µg Sb/L Urin kein Antimon detektiert werden. Die mittlere Gesamtkonzentration der hydrierbaren Spezies der Frauen liegt mit 17 ng Sb /L Urin 64 % niedriger als der der Männer mit 48 ng Sb /L Urin.

Bei den Zinnspezies (Abbildung 16 und Tabelle 13) stellt sich die Situation wie folgt dar.



**Abbildung 16** Vergleich von Zinnspezieskonzentrationen im Urin von Frauen und Männern

	anorganisches Sn [%]	MeSnH <sub>3</sub> [%]	Me <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub> [%]	Me <sub>3</sub> SnH [%]	Me <sub>4</sub> Sn [%]
Frauen	98,9	0,6	0,2	0,3	< 0,01
Männer	99,1	0,4	0,4	0,1	< 0,01

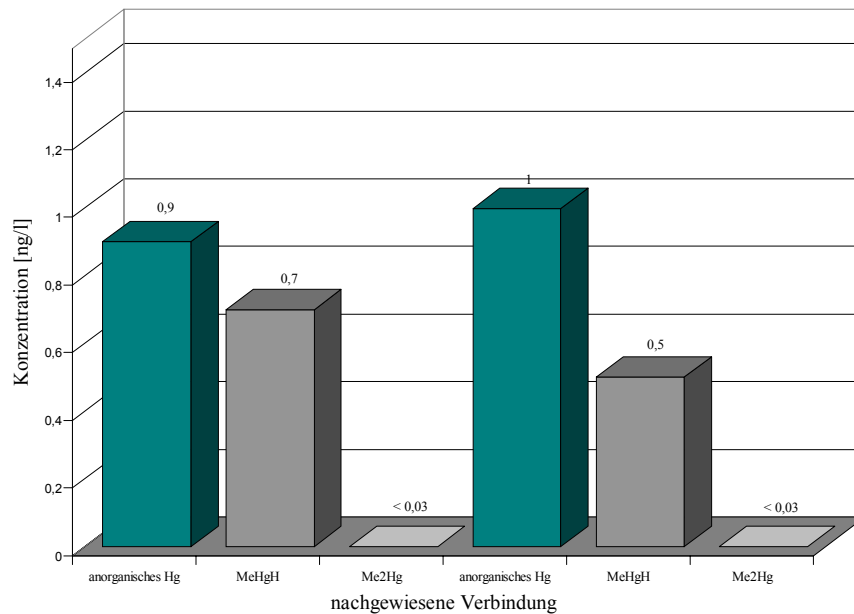
**Tabelle 13** Prozentuale Verteilung der hydrierbaren Zinnspezies im Urin bei Frauen und Männern

Die in allen Urinproben zu 99 % vorliegende Spezies ist das anorganische Zinn. Der Anteil der erstmalig nachgewiesenen methylierten Zinnspezies in Humanurin liegt bei ca. 1 %, wobei Tetramethylzinn nur in einer von vierzig Urinproben detektiert werden konnte. Vergleichsdaten unkontaminierter Urinproben liegen nicht vor.

Die mittleren Zinnkonzentrationen hydridbildender oder peralkylierter Verbindungen liegen bei den Frauen mit 356 ng Sn /L Urin 23 % niedriger als bei den Männern (462 ng Sn/L Urin).

Die Bestimmung der Zinngesamtkonzentrationen über die Lösungsanalytik des ICP-MS ergab für Frauen und Männer analoge durchschnittliche Konzentrationen von 3,5 µg Sn/L Urin.

Abbildung 17 zeigt den Konzentrationsvergleich der nachgewiesenen Quecksilberspezies im Urin von Frauen und Männern.



**Abbildung 17** Vergleich von Quecksilberspezieskonzentrationen im Urin von Frauen und Männern

Die prozentuale Verteilung des in den Urinproben detektierten anorganischen Quecksilbers und des Monomethylquecksilbers ergibt sich bei den Frauen zu 56 % und 44 % und bei den Männern zu 67 % und 33 %. Dimethylquecksilber wurde nur in einer von vierzig Urinproben nachgewiesen.

Die Speziierung des Quecksilbers ist etabliert, jedoch fehlt dessen Anwendung in der Matrix Urin. Einige Studien beschreiben die Addition von Quecksilberspezies zu Urinproben. So wies Sanz-Mendel [1998] Mono- und Dimethylquecksilber in einer mit  $\text{Hg}^{2+}$  und  $\text{MeHgCl}$  versetzten Urinprobe nach.

Ferner wurde in 97 % der Urinproben Dimethyldiselen ( $\text{Me}_2\text{Se}_2$ ) mit mittleren Konzentrationen von 8,3 ng Se/L bei den Frauen und 14,4 ng Se/L bei den Männern detektiert. In fünf Proben konnte Monomethylselen nachgewiesen werden, während das Vorliegen von anorganischem Selen nur in einer Probe gezeigt werden konnte. Vergleichswerte liegen für die methylierten Selenspezies in der Literatur nicht vor.

Viele publizierte Nachweismethoden basieren auf der Trennung von Selenit, Selenat, Selenomethionin und dem Trimethylseloniumion [Yang und Jiang 1995, Gammelgaard et al. 2001], einige ermöglichen zusätzlich die Detektion von Selenoethionin oder Selenocystamin [Li et al. 1998, Quijano et al. 1999, Cao et al. 2001] in Urinproben.

Gallus und Heumann [1999] sowie Moreno et al. [2000] stellten neben der hier angewandten weitere Methoden zum Nachweis von Dimethylselen und Dimethyldiselen vor.

Erstere arbeiten ebenfalls mit einer gaschromatographischen Trennung und ICP-MS-Detektion bei gleichzeitiger Anwendung der Isotopenverdünnungsanalyse mit Nachweisgrenzen im unteren ng/L-Bereich, während Moreno et al. den Nachweis der Spezies durch Verdampfung der Probe und atomfluoreszenzspektrometrischer Detektion mit Nachweisgrenzen von 0,7 µg/L bzw. 0,4 µg/L erreichen. Diese Methoden wurden jedoch bisher nicht auf die Matrix Urin angewandt.

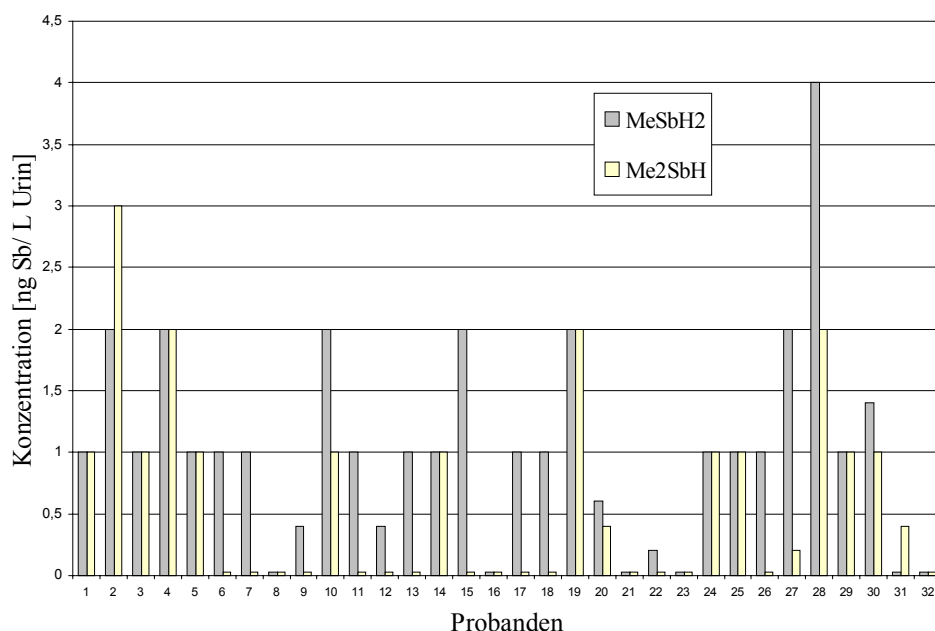
Die Konzentrationsbestimmung über die Lösungsanalytik des ICP-MS lieferte für die Proben von Frauen und Männern mittlere Konzentrationen von 44 µg Se/L Urin.

Da die Nachweisgrenzen der hier angewandten Bestimmungsmethode über die Lösungsanalytik des ICP-MS bei 0,1 µg Element/L Urin liegen, konnten beispielsweise die Konzentrationen der mittels HG/LT-GC/ICP-MS-Kopplung nachgewiesenen Antimonhydride über die Lösungsanalytik nicht bestätigt werden, da diese um den Faktor 1000 unterhalb der Nachweisgrenze liegen. Weiterhin konnte keine Korrelation der Konzentrationen der Gesamtgehaltsbestimmung mit den hier ermittelten Konzentrationen der nachgewiesenen Spezies gezeigt werden.

Zur Beschreibung eines linearen Zusammenhanges zwischen zwei Variablen, hier zwei Verbindungen, dient der Korrelationskoeffizient  $r$ . In der vorliegenden Studie wurde zu dessen Berechnung, auf Grund der Verteilungseigenschaften der Verbindungen, für die bivariate Korrelationsanalyse der Spearman-Korrelationskoeffizient benutzt [Kreienbrock und Schach 1997].

Hierbei kann der Korrelationskoeffizient  $r$  Werte zwischen  $-1$  und  $+1$  annehmen. Bei Werten im Bereich von  $0$  ist davon auszugehen, dass zwischen den Verbindungen kein Zusammenhang besteht. Werte im negativen Bereich bis  $-1$  werden als negative Korrelation interpretiert, das bedeutet bei hohen Werten der einen Verbindung sind die korrelierten Werte der anderen Verbindung niedrig. Bei einem Korrelationskoeffizienten mit Werten größer Null bis  $+1$  würden beim Vorliegen hoher Werte der einen Komponente auch hohe Werte der anderen Komponenten existieren.

Tabelle A7 des Anhangs ist die Ergebnispräsentation der über die Spearman-Korrelation ermittelten Korrelationskoeffizienten, dabei werden nur die Spezies aufgeführt, bei denen der Median der Konzentrationen größer als  $0$  ng Element/L Urin ist. Die sehr gute Korrelation der Spezies Mono- und Dimethylantimon mit einem Spearman-Korrelationskoeffizienten von  $0,69$  ist in Abbildung 18 dargestellt.



**Abbildung 18** Korrelation des Mono- und des Dimethylantimons in den Urinproben von 32 Probanden der Bremer Querschnittsstudie

Die graphische Auftragung zeigt für viele Urinproben die Dominanz des Mono- gegenüber dem Dimethylantimon. In den übrigen Proben liegen entweder die Konzentrationen beider Spezies unterhalb der Nachweisgrenzen von 0,03 µg Sb/L oder sie entsprechen sich. Lediglich zweimal (*Probanden 2 und 31*) konnte für das Dimethylantimon eine höhere Konzentration als für die Monomethylkomponente nachgewiesen werden.

Während die Methylierung von anorganisch aufgenommenem Arsen im menschlichen Körper bekannt ist -die Korrelation des anorganischen Arsens und des Monomethylarsens zeigt ein Überwiegen der methylierten Spezies- zeigen neueste mikrobielle Untersuchungen [Andrews et al. 2000a und Smith et al. 2002a] für das Antimon einen Methylierungsmechanismus analog dem des Arsens. Die Methylierung des Antimons im Organismus konnte jedoch bisher nicht nachgewiesen werden, wohl aber die Reduktion des in den Organismus aufgenommenen pentavalenten anorganischen Antimons zu Antimon<sup>III</sup> als Ausgangsverbindung für die Methylierung [Miekeley et al. 2002]. Die hier in den analysierten Urinproben vorliegende Korrelation zeigt ein Überwiegen der monomethylierten Komponente, die im Methylierungsprozeß des anorganischen Antimons die Vorstufe der dimethylierten Verbindung ist.

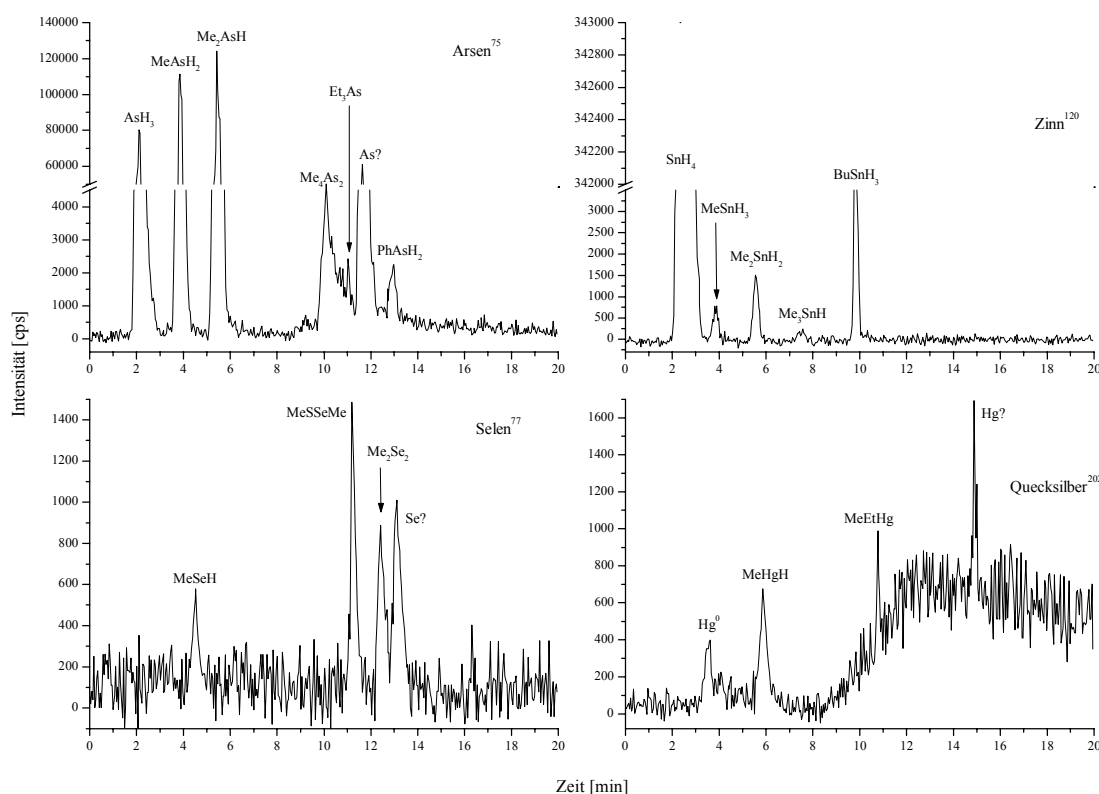
Die ermittelten Konzentrationen der metall- und metalloïdorganischen Verbindungen dieser Studie liegen in der Größenordnung der anderen im Rahmen der vorliegenden Arbeit gefundenen.

Zwei signifikant erhöhte Konzentrationen des Dimethylarsens von 1112 und 1045 ng As/L Urin für die Probanden mit den Schlüsselnummern M25125 und F26078, könnten auf den Verzehr von Fisch oder Meeresfrüchten ein oder zwei Tage vor der Urinprobennahme deuten. Andererseits weisen beide Probanden keine signifikant höheren Werte in der Arsengesamtgehaltsbestimmung auf, was bei Verzehr von Fisch durch dessen hohen Gehalt an Arsenobetain jedoch zu erwarten wäre.

Um weitere diesbezügliche Rückschlüsse ziehen zu können, müssten für Folgeuntersuchungen entsprechende Hintergrunddaten verfügbar sein.



In Abbildung 19 sind exemplarisch die Chromatogramme der Elemente Arsen, Zinn, Selen und Quecksilber gezeigt.



**Abbildung 19** Chromatogramme der Elemente Arsen, Zinn, Selen und Quecksilber zu Urinproben von Probanden der Bremer Querschnittsstudie

Das Chromatogramm des Arsens zeigt neben dem anorganischen Arsen, Mono- und Dimethylarsen, Tetramethyldiarsen, Triethylarsen, Phenylarsen (*Tabelle 4, S. 93*) und eine unbekannte Arsenspezies. Bei dieser bisher nicht identifizierten Arsenverbindung mit einer Retentionszeit von 11,9 Minuten handelt es sich wahrscheinlich um eine schwerer flüchtige Spezies mit einem Siedepunkt über dem des  $Et_3As$ , eventuell um eine Diarsenverbindung oder ein Arsenchlorid.

Die Siedepunkt/Retentionszeitkorrelation ermöglicht eine Identifizierung unbekannter Verbindungen anhand ihrer Retentionszeiten. Wie in *Abschnitt 2.5* beschrieben, gelingt die Anwendung dieses Verfahrens bei Verbindungen mit Siedepunkten bis etwa 120 °C und entsprechend Retentionszeiten von bis zu zehn Minuten ausnahmslos, während höher

siedende größere Moleküle auf Grund des Vorhandenseins von sterisch anspruchsvollen Liganden die gaschromatographische Säule nicht gemäß der nach ihren Siedepunkten erwarteten Zeit verlassen. Somit kann für die hier nachgewiesene unbekannte Arsenverbindung keine Berechnung des Siedepunktes erfolgen.

Das Chromatogramm des Zinns zeigt die grundliniengetrennten Spezies Monomethyl-, Dimethyl-, Trimethyl- und Monobutylzinn sowie das anorganische Zinn.

Neben den erstmalig im Urin nachgewiesenen Spezies Methylselen, Dimethylschwefelselen und Dimethyldiselen konnte eine weitere Selenspezies mit einer Retentionszeit von 13,3 Minuten nachgewiesen werden. Eventuell handelt es sich hierbei um eine höher substituierte Diselenspezies.

Der charakteristische bisher nicht geklärte Grundlinienanstieg des Quecksilbers bei einer Retentionszeit von etwa 9 Minuten erschwert einen Nachweis der höher siedenden Spezies. Der Peak bei 10,7 Minuten entspricht dem Methylethylquecksilber, eine unbekannte und bisher nicht identifizierte Spezies konnte bei einer Retentionszeit von 15 Minuten nachgewiesen werden.

### 3.3 *Biological monitoring des Urins eines Probanden*

Innerhalb eines Zeitraumes von 30 Monaten wurden Urinproben eines Probanden im Hinblick auf Basiskonzentrationen metall- und metalloideorganischer Verbindungen analysiert. Die Proben wurden im Abstand von drei Monaten regelmäßig ohne Veränderung der Ess- und Lebensgewohnheiten des Probanden genommen und innerhalb der folgenden drei Stunden untersucht. Die Gehalte der nachgewiesenen Verbindungen sind in Tabelle A8 des Anhangs, die mittleren Konzentrationen der Spezies, die in  $\frac{1}{3}$  der Proben vorhanden waren folgend in Tabelle 14 aufgeführt.

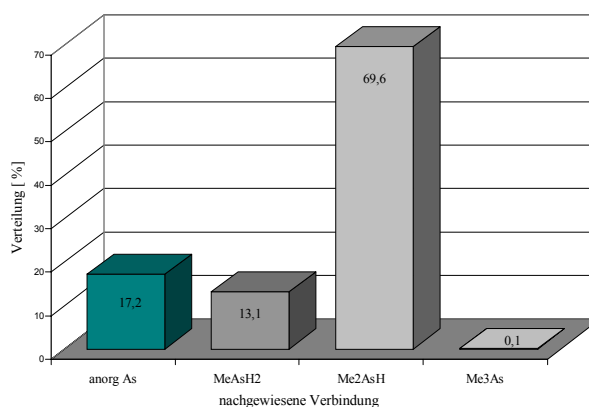
	Konzentration [ng/L]	Maximum [ng/L]	Minimum [ng/L]
GeH <sub>4</sub>	6 ± 2	31	0,3
AsH <sub>3</sub>	74 ± 22	112	37
MeAsH <sub>2</sub>	56 ± 17	150	22
Me <sub>2</sub> AsH	299 ± 90	697	60
Me <sub>3</sub> As	1 ± 0,3	1	1
Me <sub>2</sub> Se <sub>2</sub>	1 ± 0,3	2	1
SnH <sub>4</sub>	1724 ± 517	3924	1276
MeSnH <sub>3</sub>	8 ± 2	24	1
Me <sub>3</sub> SnH	5 ± 2	14	0,4
BuSnH <sub>3</sub>	99 ± 30	252	1
MeHgH	1 ± 0,3	4	1

**Tabelle 14** Im Urin eines Probanden über einen Zeitraum von 2,5 Jahren nachgewiesene Konzentrationen metall- und metalloideorganischer Verbindungen

Der Differenzfaktor von maximaler zu minimaler Konzentration liegt zwischen 2 und 252. Für manche Komponenten wie anorganisches Arsen und Zinn zeigt sich eine Kontinuität im Konzentrationsbereich, während andere Verbindungen wie beispielsweise das BuSnH<sub>3</sub> oder anorganisches Germanium starke Konzentrationsschwankungen aufweisen. Konzentrationsunterschiede der Elemente von Arsen, Zinn und Quecksilber können auf den Verzehr von Fisch ein bis zwei Tage vor der Probennahme zurückzuführen sein (*Tabelle 15, S. 120*), Schwankungen in der Selenkonzentration können ebenfalls durch unterschiedliche Selenaufnahme über die Nahrung begründet werden. Zu den selenreichen Nahrungsmitteln zählt ebenfalls Fisch, weiterhin Brokkoli, Zwiebeln, Knoblauch, Rettich, Spinat, Weizenkeime und Bierhefe.

### 3.3.1 Vergleich der hier ermittelten Konzentrationen mit denen der Querschnittsstudie

Der Vergleich der nachgewiesenen metall- und metalloideorganischen Verbindungen bezieht sich auf die in *Abschnitt 3.2* dargestellten Konzentrationen für die Querschnittsstudie der Bevölkerung Bremens. Die prozentuale Verteilung der vier detektierten Arsenkomponenten, die in Abbildung 20 gezeigt ist, stimmt mit der in der Literatur angegebenen überein.



**Abbildung 20** Verteilung hydrierbarer Arsenkomponenten in einer unbelasteten Humanurinprobe

Wie in den Harnproben der Bremer Querschnittsstudie konnte hier im gleichen Konzentrationsbereich TMA mit einem Anteil von 0,1% nachgewiesen werden. Die mittlere nachgewiesene Gesamtkonzentration des hydrierbaren Arsens liegt mit 430 ng As/L Urin ebenfalls im Rahmen der Literaturangaben und den ermittelten Daten für die Bremer Basisgehaltsbestimmung.

Das anorganische Zinn ist entsprechend den Vergleichswerten mit einem Anteil von 94 % Hauptzinnskomponente. Dahingegen konnte hier die Verbindung  $\text{BuSnH}_3$  mit einem Anteil von 5,4 % nachgewiesen werden. Die Gesamtkonzentration des hydrierbaren Zinns beträgt 1836 ng Sn/L und liegt somit um den Faktor 5 höher als die entsprechenden Vergleichswerte.

Während die Konzentration des Methylquecksilbers der der Vergleichswerte entspricht, konnte elementares Quecksilber nur in 5 von 9 Proben nachgewiesen werden. Zusammenfassend betrachtet stimmen die nachgewiesenen Spezies und deren Konzentrationsbereiche mit den gefundenen Komponenten der Querschnittsstudie der Bremer Bevölkerung und deren Gehalten weitestgehend überein.

### 3.3.2 Stabilität von Urinproben

In Realproben sind Pilze und Bakterien, die in der Lage sind, vorliegende Spezies zu transformieren, allgegenwärtig.

Bei der Lagerung klinischer Proben wird eine Temperaturverringerung mit einer Herabsetzung der biologischen Aktivität der Mikroorganismen gleichgesetzt.

Feldmann et al. [1999] zeigten die Stabilität der Arsenkomponenten  $\text{As}^{\text{III}}$ ,  $\text{As}^{\text{V}}$ , MMA, DMA und AB in Urinproben ohne Additive bei bis zu zweimonatiger Lagerung in einem Temperaturbereich von +4 °C bis -20 °C. Die Zugabe von 0,1 mol/L Salzsäure führte zu einer Umlagerung einiger Spezies. Urine, welche für einen Zeitraum von acht Monaten aufbewahrt wurden, wiesen nur noch für das AB unveränderte Konzentrationen auf. Dies bestätigen Lindemann et al. [2000], die in Urinproben für MMA, DMA und  $\text{As}^{\text{V}}$  geringere und für  $\text{As}^{\text{III}}$  höhere Gehalte nach acht Monaten Lagerung bei -20 °C nachwiesen, wohingegen eine Lagerung bei +3 °C unter Ausschluss von Licht nach zwei Wochen keine Veränderung hinsichtlich der Antimon-, Arsen-, Selen- und Tellurspezies bewirkte.

Olivas et al. [1998] beobachteten keinen Einfluss der Analytkonzentrationen in der Probe bei Lagerungstemperaturen von +4 °C und -20 °C auf die Stabilität der Spezies, empfehlen aber eine Aufbewahrung sowohl unter Licht- als auch unter Sauerstoffausschluss.

Alle in der vorliegenden Arbeit untersuchten Urinproben wurden unmittelbar nach der Probennahme in Polyethylen-Gefäßen, ohne Additive, bei -20 °C für maximal acht Wochen bis zur Durchführung der Analyse aufbewahrt. Allerdings konnten auch nach dreimonatiger Lagerung keine signifikanten Konzentrationsänderungen der Spezies einer Urinprobe festgestellt werden.

### 3.4 Verzehr metall- und metalloidhaltiger Lebensmittel

In der folgenden Tabelle sind einige Spezieskonzentrationen in Salzwasserfischen unkontaminierter Gewässer der Elemente Zinn, Arsen und Quecksilber zusammengestellt.

	MMT [µg/kg]	DMT [µg/kg]	TMT [µg/kg]	MBT [µg/kg]	DBT [µg/kg]	TBT [µg/kg]	Literatur- quelle
Aal	17	13	20	13	12	27	Shawky 1996
Delfin	k. A.	k. A.	k. A.	53	50	127	Iwata 1997

	Hg <sup>II</sup> [µg/kg]	MMHg [µg/kg]	Literaturquelle
Schwertfisch	89	412	Chiou 2001

	AB [mg/kg]	MMA [mg/kg]	DMA [mg/kg]	TMA [mg/kg]	AC [mg/kg]	Literatur- quelle
gr. Seehecht	18	k. A.	0,2	k. A.	0,02	Suner 2002
kl. Seehecht	16	k. A.	0,2	k. A.	0,04	Suner 2002
Sardelle	18	0,01	1	0,1	k. A.	Suner 2002
Sardine	11	0,01	1	k. A.	k. A.	Suner 2002
Makrele	3	0,004	0,4	k. A.	k. A.	Suner 2002
Schellfisch	13	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.	Suner 2002

k. A.= keine Angaben in der entsprechenden Literaturquelle vorhanden

**Tabelle 15** Spezieskonzentrationen der Elemente Arsen, Quecksilber und Zinn in Meeresfischen

Ferner wurden in Nordseeschollen Arsengesamtkonzentrationen zwischen 44 und 276 mg/kg detektiert, wobei die Konzentration der Monomethylarsen- und der Dimethylarsinsäure unter 1% lag [Lehmann und Ebeling 2001].

Die von Suner et al. [2002] nachgewiesenen Arsenkonzentrationen zeigen in den analysierten Fischproben einen Anteil des Arsenobetains von durchschnittlich 94 %. Die Gehalte von MMA, DMA, TMA und Arsenocholin entsprechen Anteilen von 0,1; 6,3; 0,6; bzw. 0,1 %.

Während die Literatur wenig Aussagen über die Spezifizierung der im Fisch angereicherten Elemente bietet, liegen viele Publikationen über die Bestimmung der Gesamtgehalte der im Fisch akkumulierten Elemente Arsen und Quecksilber vor. Burger et al. [2002] wiesen in Hechten und Aalen aus unkontaminierten Gewässern in den Vereinigten Staaten je 0,03 mg As/kg und in Barschen 0,19 mg Hg/kg nach. Castro et al. [2002] konnten dort in Barschen zwischen 0,13 und 0,55 mg Hg/kg detektieren.

In den Fischen der Regionen des Amazonas konnten Quecksilberkonzentrationen von 0,01 bis 2,9 mg Hg/kg nachgewiesen werden [Akagi et al. 1995]. In den USA wurde die durchschnittliche Quecksilberkonzentration in Speisefischen mit 0,13 mg/kg bestimmt [Mahaffey und Rice 1997], Studien in anderen Ländern ergaben Konzentrationen im ng/kg- bis mg/kg-Bereich [Han et al 1998].

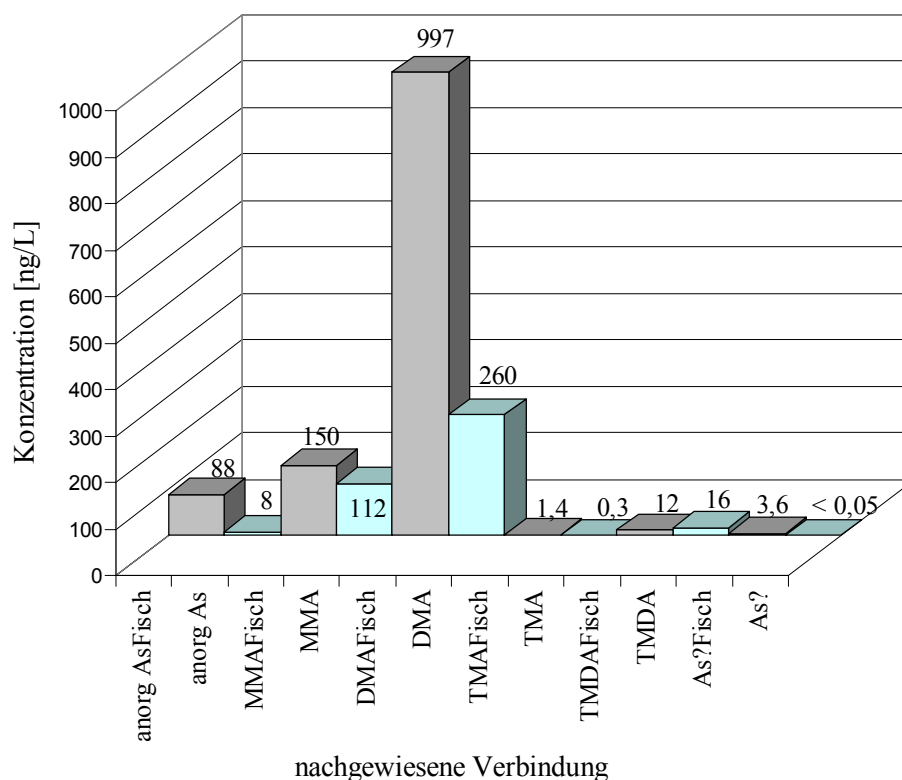
Die geschätzten Quecksilberkonzentrationen in Salzwasserfischen unkontaminierter Gewässer reichen von 0,02 bis 0,6 mg Hg/kg, mit einem Anteil an methylierten Quecksilberverbindungen von mindestens 30 % [Sweet und Zelikoff 2001].

Sur et al. [1999] zeigten nach dem Verzehr von Meeresfrüchten einen unwesentlichen Anstieg der anorganischen Arsenkonzentration, eine Verdoppelung der DMA-Werte und eine Verdreifachung der Konzentration des AB im Urin. Ebenso konnten Goessler et al. [1997] keinen Einfluss des Verzehrs einer Fischmahlzeit auf die Konzentrationen des anorganischen Arsens und des MMA im Humanurin feststellen, wohingegen die Konzentration von DMA eine zwei- bis fünffache Erhöhung erfuhr.

### 3.4.1 Analyse der Urinproben von Meeresfrüchten und Fisch konsumierenden und nicht-konsumierenden Probanden

Die Urinproben eines Probanden (A), der seit mindestens einem Jahr keine Meeresfrüchte oder Fisch in jeglicher Art verzehrt hatte, wurden mit denen eines regelmäßigen Fischessers (B) verglichen. Dabei weisen die gefundenen Spezies anorganisches Germanium, Dimethyldiselen und die Zinnspezies anorganisches Zinn, Mono-, Di- und Trimethylzinn und Monobutylzinn keine signifikanten Konzentrationsunterschiede auf. Das in beiden Urinen als einzige Quecksilberspezies vorliegende Monomethylquecksilber konnte mit mittleren Konzentrationen von 1 ng Hg/L für Proband A und 4 ng Hg/L für Proband B bestimmt werden.

Kennzeichnend sind die unterschiedlichen Konzentrationen der nachgewiesenen Arsenkomponenten, die in Abbildung 21 und Tabelle 16 gegenübergestellt sind.



**Abbildung 21** Vergleich von Arsenspezies im Urin eines Fisch- und eines Nicht-Fisch-Konsumenten



Die prozentuale Verteilung der nachweisbaren Arsenspezies liegt bei beiden Probanden im Rahmen der von Sur et al. [1999] postulierten. Der Urin von Proband *B* enthielt zwei unbekannte Arsenkomponenten mit Retentionszeiten von 16 und 17,5 Minuten. Hierbei handelt es sich um höher siedende schwer flüchtige Verbindungen, eventuell Arsenchloride, die jedoch bisher nicht identifiziert werden konnten.

	$\Sigma$ As [ng/L]	anorganisches As [%]	MMA [%]	DMA [%]	TMA [%]	Me <sub>4</sub> As <sub>2</sub> [%]	As? [%]
Proband A	396	2	28,3	65,6	0,1	4	< 0,01
Proband B	1252	7	12	79,6	0,1	1	0,3

**Tabelle 16** Prozentualer Vergleich von Arsenspezies im Urin eines Fisch- und eines Nicht-Fisch-Konsumenten

Da es sich um gemittelte Konzentrationen aus mehreren Urinproben handelt, ist die dreimal höhere Arsenkonzentration des Probanden *B* signifikant für den Urin eines meeresfrüchte- und fischverzehrenden Menschen.

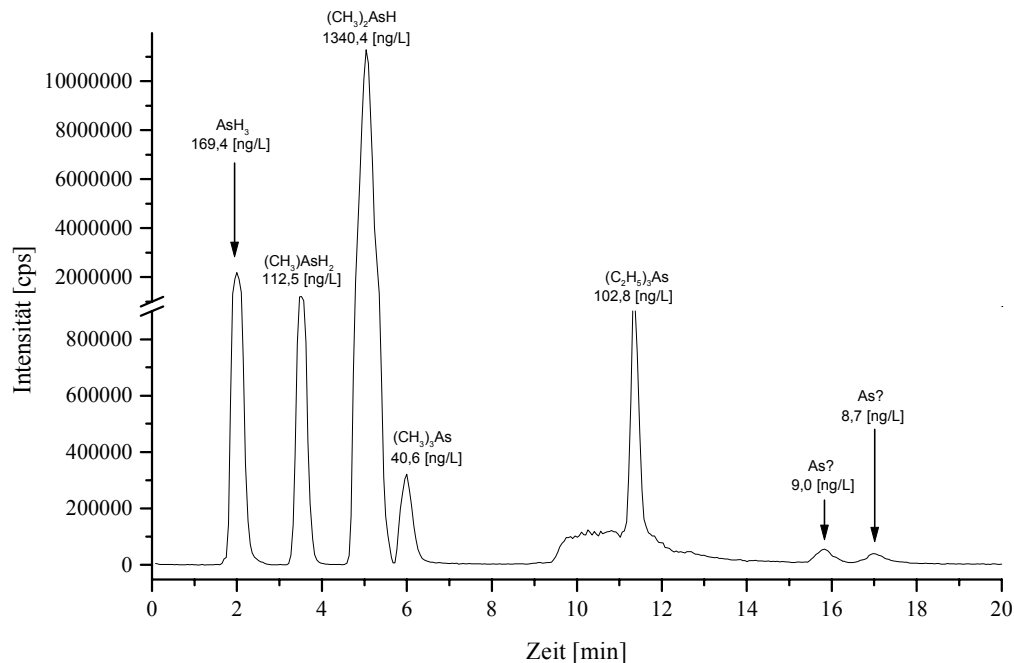
### 3.4.2 Gezielter Fischkonsum bei gleichzeitiger Kontrolle des Ausscheidungsproduktes Urin

Die Auswirkungen des Verzehrs von einem Kilogramm Seelachsfilet auf die Ausscheidung metall- und metalloideorganischer Verbindungen über den Urin wurden anhand von Harnproben, die in 7-Stundenintervallen nach dem Fischverzehr genommen wurden, analysiert. Die Resultate der Analysen der Urinproben vor und 60 Stunden nach der Fischmahlzeit wurden als Blindwert definiert. Der Fisch wurde in verzehrfertigem Zustand homogenisiert und ebenfalls entsprechend den Harnproben analysiert. Die mittleren Konzentrationen der in den unkontaminierten und den belasteten Urinen und der Fischprobe nachgewiesenen hydrierbaren Spezies sind in Tabelle 17 aufgeführt.

	Analyse 1+6	Analyse 2	Analyse 3	Analyse 4	Analyse 5	Analyse 7
	Urin Blindwert [ng/L]	Urin nach 7 Std. [ng/L]	Urin nach 14 Std. [ng/L]	Urin nach 21 Std. [ng/L]	Urin nach 28 Std. [ng/L]	verzehrter Fisch [ng/kg]
GeH <sub>4</sub>	2	1	1	< 0,15	1	2
MeGeH <sub>3</sub>	< 0,15	< 0,15	0,5	< 0,15	0,3	1
AsH <sub>3</sub>	162	93	170	766	192	< 0,4
MeAsH <sub>2</sub>	242	187	113	128	235	18
Me <sub>2</sub> AsH	263	970	1340	1650	1701	918
Me <sub>3</sub> As	3	2	41	2	< 0,05	29
Me <sub>2</sub> SSe	4	2	2	3	1	< 1,2
Me <sub>2</sub> Se <sub>2</sub>	5	2	4	3	3	< 1,2
SnH <sub>4</sub>	< 0,05	140	221	146	208	< 0,4
MeSnH <sub>3</sub>	2	0,2	1	0,1	1	< 0,4
Me <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub>	6	2	6	1	5	< 0,4
SbH <sub>3</sub>	1150	227	1532	2023	442	1612
MeSbH <sub>2</sub>	5	2	3	2	3	6
Me <sub>2</sub> SbH	1	< 0,03	1	< 0,03	1	19
Me <sub>3</sub> Sb	0,4	< 0,03	5	< 0,03	2	10
Hg <sup>0</sup>	< 0,03	20	24	32	39	5
MeHgH	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	692

**Tabelle 17** Nachgewiesene hydrierbare Spezies im Urin nach Verzehr einer Fischmahlzeit

Abbildung 22 zeigt das Chromatogramm des Arsens in der Urinprobe 14 Stunden nach dem Verzehr der Fischmahlzeit.



**Abbildung 22** Chromatogramm des Arsens in einer Urinprobe 14 Stunden nach Verzehr einer Fischmahlzeit

Neben den in obiger Tabelle genannten Arsenspezies wurden in dieser Probe Triethylarsen und zwei bisher nicht identifizierte Arsenkomponenten nachgewiesen, wobei sie ihren Retentionszeiten nach zu urteilen, den unbekannten Arsenspezies, die bereits in *Abschnitt 3.4.1* erwähnt wurden, entsprechen.

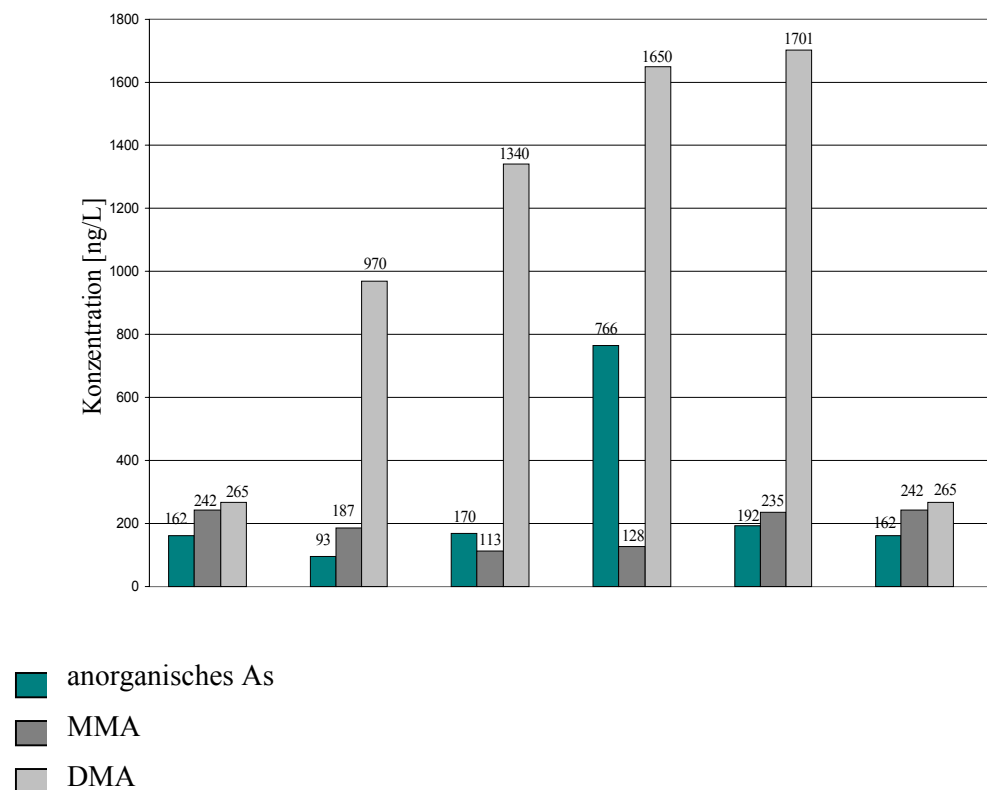
Die nachgewiesene hydrierbare Gesamtkonzentration des Arsens liegt in dem unbelasteten Urin bei 967 ng As/L, die hydrierbare Ausscheidung des Arsens nach dem Fischverzehr beträgt nach 7, 14, 21 und 28 Stunden 1250, 1623, 2544 bzw. 2128 ng As/L Urin. Dies ergibt ein Ausscheidungsmaximum, welches zwischen 21 und 28 Stunden nach Einnahme der arsenenthaltenden Mahlzeit liegt. Die weitere Kontrolle der Arsenkonzentrationen im Urin zeigte, dass die Reduzierung auf die Basiskonzentration nach 60 Stunden abgeschlossen war.

Die Analyse der Fischprobe ergab kein anorganisches, im unteren ng/kg-Bereich vorliegendes mono- und trimethyliertes und 920 ng/kg dimethyliertes Arsen.

Da das in Fischen und Meeresfrüchten akkumulierte Arsen hauptsächlich als Arsenobetain vorliegt [Hanaoka et al. 2001], wobei die Anteile an MMA und DMA in nicht fetten Speisefischen unter 1% liegen [Lehmann und Ebeling 2001], kann auf eine Arsengesamtkonzentration von ungefähr 100 µg As/kg Fisch geschlossen werden.

Die Hauptausscheidung des Arsens findet über die Niere statt, bis zu 85 % des aufgenommenen Arsens werden innerhalb von ein bis drei Tagen über den Urin eliminiert, wobei die hier detektierbare Arsenausscheidung innerhalb von 28 Stunden  $\frac{1}{6}$  des nachweislich aufgenommenen Arsens beträgt.

Die Gegenüberstellung der Konzentrationen des anorganischen Arsens, MMA und DMA kann Abbildung 23 entnommen werden.

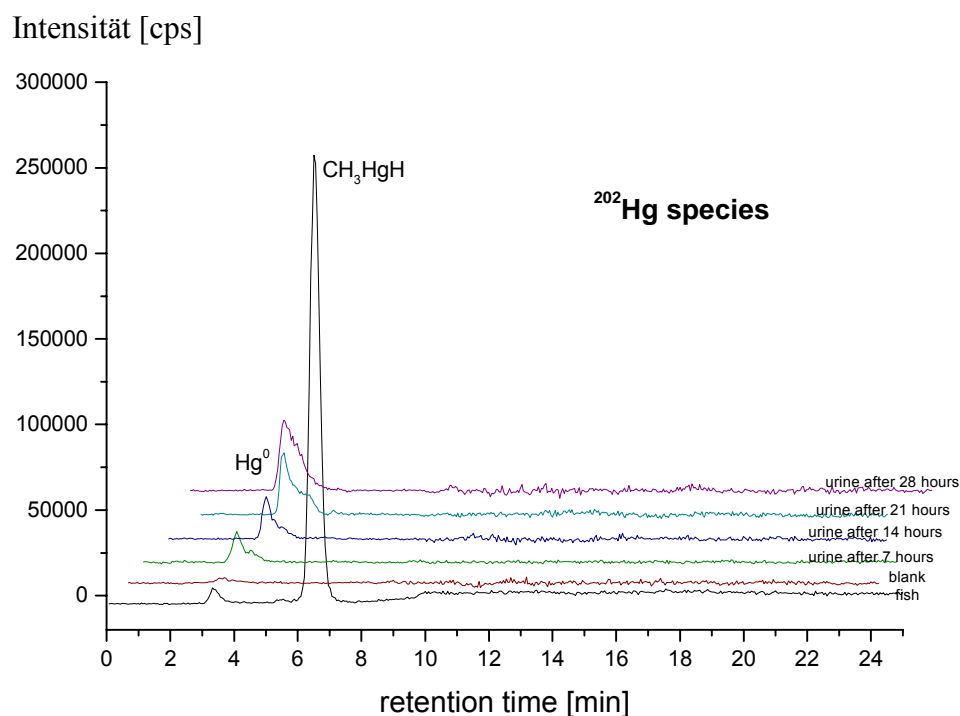


**Abbildung 23** Vergleich der Konzentrationen von Arsenspezies im Urin nach dem Verzehr einer Fischmahlzeit

Im Gegensatz zu Sur et al. [1999], die im Urin nach dem Verzehr einer Fischmahlzeit neben dem des Arsenobetains lediglich einen Anstieg der DMA-Konzentration um den Faktor 6 beobachteten, konnte in der vorliegenden Studie neben einem 6-fachen Anstieg der DMA- ebenfalls ein Anstieg der anorganischen Arsenkonzentration nachgewiesen werden.

Die Konstanz der Konzentration des MMA im Urin bei Verzehr arsenreicher Lebensmittel [Hakala und Pyu 1995] wird durch diese Studie bestätigt.

Durch den Verzehr des Fisches wurden 700 ng/kg detektierbares Quecksilber in Form von Methylquecksilber aufgenommen. Wie in Abbildung 24 graphisch dargestellt, konnte im Urin lediglich anorganisches Quecksilber mit Konzentrationen bis zu 40 ng Hg/L nachgewiesen werden.



**Abbildung 24** Vergleich der Quecksilber-Chromatogramme von den Urinproben vor und nach Verzehr einer Fischmahlzeit und der Fischprobe

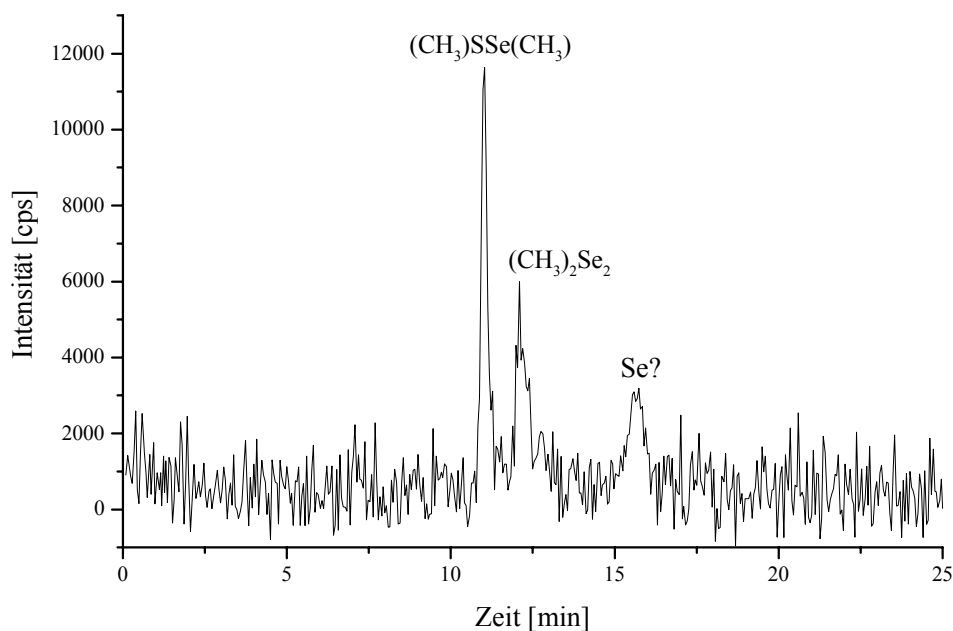
Da die Ausscheidung des Quecksilbers aus dem Organismus zu neunzig Prozent über den Darm stattfindet und das in der Niere akkumulierte Quecksilber zu 94 % in anorganischer Form vorliegt [Apostoli et al. 2002] ist der Nachweis des anorganischen Quecksilbers als einzige Quecksilberspezies im Urin zu erwarten. Das im Urin nachgewiesene Quecksilber stellt keine Basis für eine Diskussion über den Verbleib der methylierten Spezies dar. Hier müsste eine analoge Kontrolle des Ausscheidungsproduktes Stuhl erfolgen.

Überdies konnte für methylierte Spezies eine Halbwertszeit von sechzehn Tagen im Blut von Ratten beobachtet werden [Magos 2001].

Tiere sind in der Lage Methylquecksilber in anorganisches Quecksilber umzuwandeln. Diese Demethylierung der organischen Spezies wurde zu 10 bis 90 % in Nierenzellen [Narahashi et al. 1991], zu 5 % im Gehirn [Chang 1996] und zu 30 % in Lebergewebe [Yasutake et al. 1997] beobachtet. Ob dieser Prozess ebenfalls im menschlichen Organismus abläuft ist bisher ungeklärt, wird aber in einigen Studie diskutiert. So postulieren Clarkson et al. [1997] eine Spaltung der Kohlenstoff-Quecksilberbindung sowohl durch phagozytische Zellen, die zur Bekämpfung bestimmter Bakterien im Blut dienen, als auch durch die Mikroflora des Darms, wobei das entstehende anorganische Quecksilber anschließend über den Urin ausgeschieden wird [Young et al. 2001].

Für die in den Urinproben nachgewiesenen Konzentrationen der Antimon-, Selen- und Zinnspezies vor dem Fischverzehr können keine Korrelationen zu den Konzentrationen, die sich auf die Zeit nach dem Verzehr der Fischmahlzeit beziehen, ermittelt werden.

Abbildung 25 zeigt das Chromatogramm des Selen in der Urinprobe, die 21 Stunden nach Verzehr der Fischmahlzeit genommen wurde.



**Abbildung 25** Chromatogramm des Selen hinsichtlich der Urinprobe 21 Stunden nach dem Verzehr einer Fischmahlzeit

Die Selenspezies Dimethylschwefelselen und Dimethyldiselen wurden während der Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit erstmalig im Urin nachgewiesen. Weiterhin wurde eine bisher nicht identifizierte Selenspezies mit einer Retentionszeit von 15,7 Minuten detektiert, der ein Siedepunkt über dem des Dimethyldiselens von 156 °C zugeordnet werden kann.

### 3.5 Einnahme des Schwermetallbinders *Asparagus P* bei gleichzeitiger Kontrolle des Urins

Das biologische Arzneimittel *Asparagus P* (Abschnitt 1.5.2.2) enthält SH-Gruppen, die in der Lage sind, im Organismus vorhandene Metalle und Metalloide zu binden und in eine wasserlösliche Form zu überführen. Diese forcierte Ausscheidung der im Körper akkumulierten Schwermetalle geschieht über die Niere und ist über Harnanalysen kontrollierbar.

Dreimal täglich wurden von einem Probanden vier Filmtabletten *Asparagus P* entsprechend einer Wirkstoffmenge von 1,6 g über einen Zeitraum von zwei Wochen unter Beibehaltung der Essgewohnheiten eingenommen. Die Referenzprobennahme erfolgte vor Beginn und vier Tage nach Beendigung der Einnahme des *Asparagus P*.

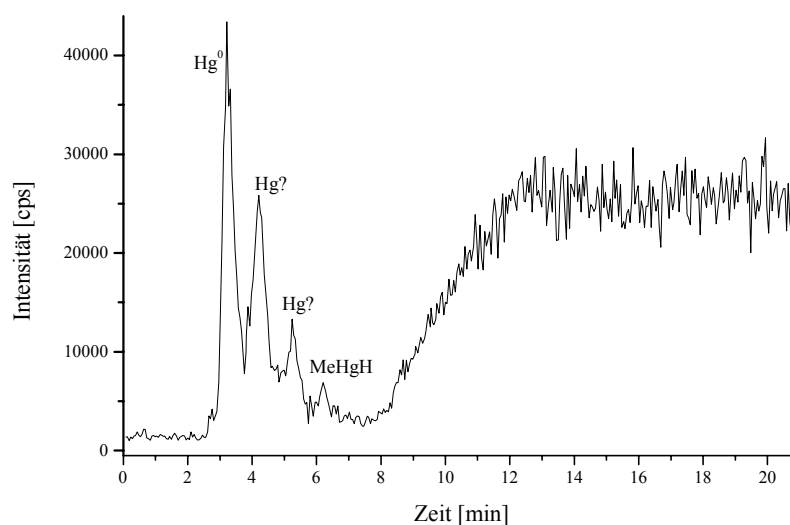
Die nachgewiesenen metall- und metalloideorganischen Verbindungen sind in Tabelle A9 des Anhangs aufgeführt.

Eine Analyse des Präparates *Asparagus P* konnte auf Grund erheblicher Schaumentwicklung bei dessen Hydrierung nicht durchgeführt werden. Damit konnte hinsichtlich der Blindwertkonzentration des *Asparagus P* keine Aussage getroffen werden.

Bei einer vergleichsweise hohen detektierten Konzentration des anorganischen Antimons in den Urinproben dieser Studie von etwa 1 µg Sb/L wird das Element Antimon bei der Ergebnisdiskussion außer Betracht gelassen, da es bei den bisher durchgeführten Urinalysen nicht nachgewiesen wurde und eventuell aus dem Präparat selber stammt.

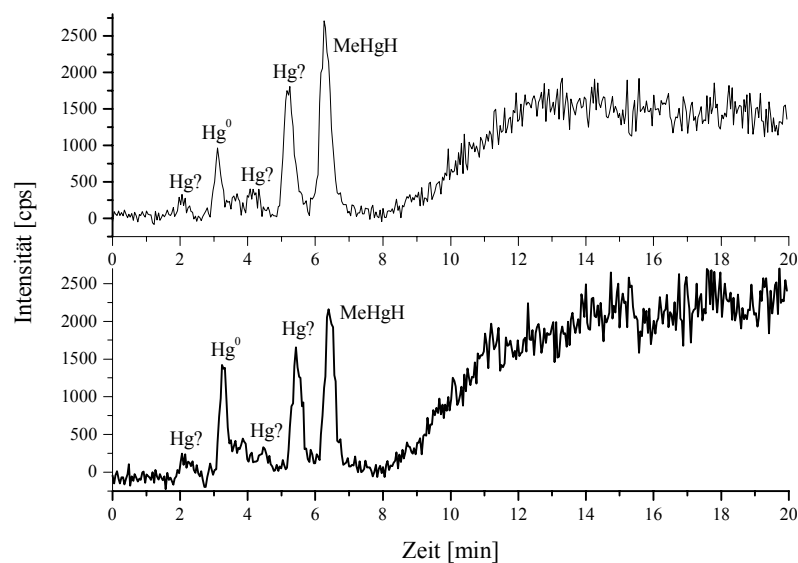
Abbildung 26 zeigt das Chromatogramm des Quecksilbers für die Harnprobe des zweiten Tages nach der Einnahme von *Asparagus P*. Neben anorganischem Quecksilber und Methylquecksilber konnten zwei bisher nicht nachgewiesene Komponenten mit Retentionszeiten von 4,1 und 5,2 Minuten detektiert werden. Bei letzterer Spezies handelt es sich eventuell um das Methylquecksilberchlorid, welches, begründet durch seine sehr hohe Flüchtigkeit [Weast 1998], das chromatographische System analog zum elementaren Quecksilber, früher verlässt als auf Grund seines Sublimationspunktes erwartet wird. Der Peak mit der Retentionszeit von 4,1 Minuten könnte dem  $\text{HgH}_2$  zuzuordnen sein.





**Abbildung 26** Chromatogramm des Elementes Quecksilber zu der zwei Tage nach der Einnahme von *Asparagus P* gewonnenen Urinprobe

In zwei unbelasteten Urinproben, die unabhängig von dieser Studie im Rahmen von Voruntersuchungen analysiert wurden, konnten ebenfalls die unbekannten Quecksilberverbindungen nachgewiesen werden. Abbildung 27 zeigt die entsprechenden Chromatogramme.

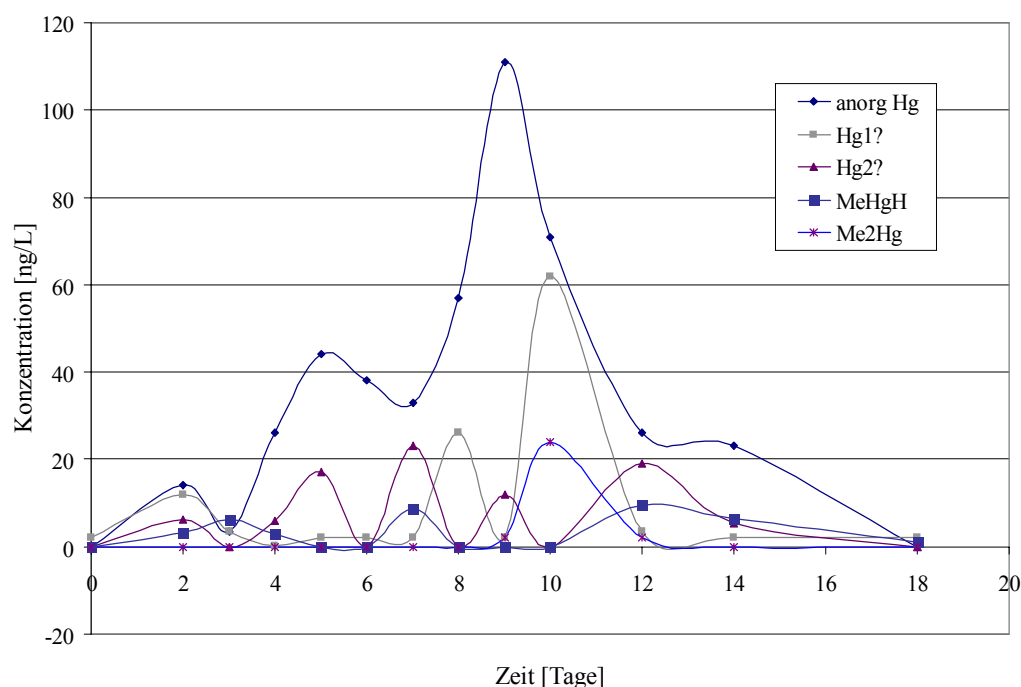


**Abbildung 27** Nachweis unbekannter Quecksilberspezies im Urin

Die in dieser Abbildung gezeigten Chromatogramme weisen im Gegensatz zum Chromatogramm der Abbildung 26 eine Grundlinientrennung der Quecksilberspezies auf. Das in der Urinmatrix an vorliegendes Chlor gebundene methylierte Quecksilber könnte bei der Hydrierung gelöst und nicht quantitativ in die hydrierte Form, sondern teilweise als  $\text{MeHgCl}$ , begründet durch dessen hohe Flüchtigkeit, in das Adsorptionsröhrchen überführt worden sein.

Die Hydrierung der  $\text{MeHgCl}$ -Standardverbindung, dessen Chromatogramm in Abbildung A4 des Anhangs dargestellt ist, ergab mit einer Hydriereffizienz von 14 % neben 91,7 % Monomethylquecksilber weiterhin 4,3 % elementares Quecksilber, 0,9 % Dimethylquecksilber und 3,1 % der unbekannten Verbindung mit einer Retentionszeit von 5,2 Minuten, bei der es sich entsprechend obiger Ausführungen um das  $\text{MeHgCl}$  handeln könnte.

Den zeitlichen Verlauf der nachgewiesenen Quecksilberspezies in den Urinproben zeigt Abbildung 28.



**Abbildung 28** Zeitlicher Verlauf der Quecksilberspezies in den Urinproben nach Einnahme des Schwermetallbinders *Asparagus P*

Wie Abbildung 28 zu entnehmen ist, wurde für das anorganische Quecksilber, die unbekannte Quecksilberspezies mit der Retentionszeit von 4,1 Minuten und das Dimethylquecksilber eine Hauptausscheidung zwischen dem achten und dem zwölften Tag der Einnahme des *Asparagus P* beobachtet, wohingegen die beiden anderen Komponenten keine signifikanten Maxima zeigten.

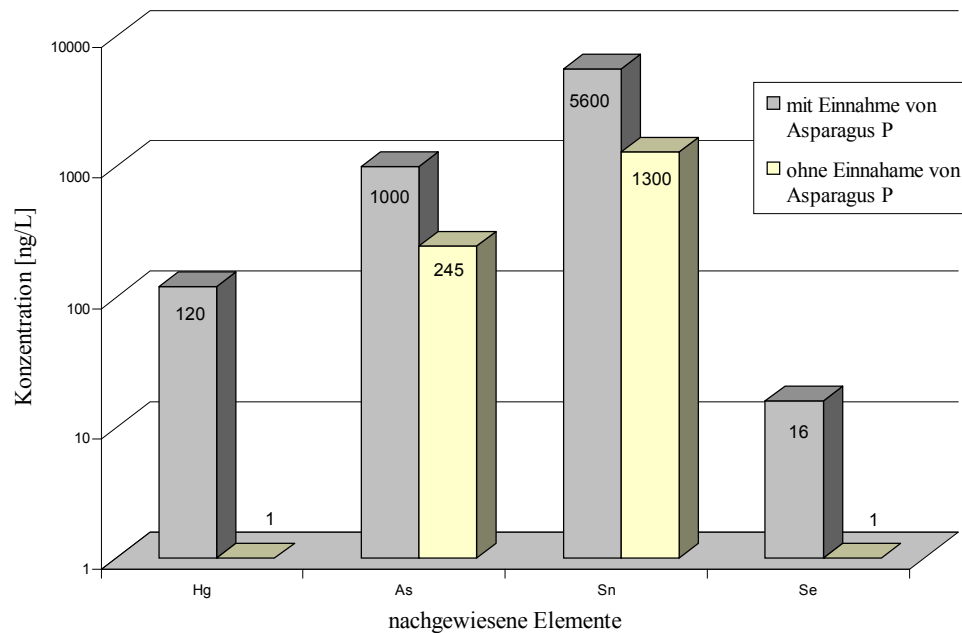
Im Gegensatz zu den Referenzurinproben, die als einzige Quecksilberspezies das Monomethylquecksilber in einer Konzentration von 1 ng Hg/L aufwiesen, wurden durch die Einnahme des Präparates und Bindung des Quecksilbers Gesamtkonzentrationen der hydrierbaren Spezies bis zu 120 µg Hg/L Urin nachgewiesen.

Sowohl die Arsenspezies anorganisches Arsen, Mono- und Dimethylarsen und Triethylarsen, als auch die des Zinns anorganisches Zinn, Mono-, Di- und Trimethylzinn und Mono- und Tributylzinn liegen im Vergleich zu den Referenzwerten im Urin ebenfalls in höheren Konzentrationen vor, jedoch ist hier kein einheitliches Ausscheidungsschema zu erkennen. Während die Konzentration des MMA nach fünf Tagen ein Maximum aufweist, zeigen die übrigen Arsenspezies gleich bleibend erhöhte Konzentrationen in den Urinproben.

Die Ausscheidungen des anorganischen Zinns und des Tributylzinns erreichen zwischen dem sechsten und dem zehnten Tag Maximalwerte, wohingegen die des Monobutylzinns in den ersten fünf Tagen höhere Werte zeigt und für die weiteren Zinnkomponenten konstantes Verhalten zu erkennen ist.

Für alle im Urin des Probanden vorliegenden Spezies sind jedoch durch die Einnahme des Präparates *Asparagus P* höhere Konzentrationen als in den Referenzproben nachgewiesen worden.

Abbildung 29 stellt in einer logarithmischen Auftragung die höchsten nachgewiesenen Gesamtkonzentrationen der hydrierbaren Spezies vor und nach Einnahme von *Asparagus P* gegenüber.



**Abbildung 29** Vergleich der im Urin nachgewiesenen Gesamtkonzentrationen der hydrierbaren Spezies der Elemente Quecksilber, Arsen, Zinn und Selen vor und nach Einnahme von *Asparagus P*

Die höchsten Gesamtausscheidungen der hydridbildenden Verbindungen belegen mit 120 ng Hg/L, 1 µg As/L, 5,6 µg Sn/L und 16 ng Se/L im Vergleich zu den durchschnittlichen Referenzwerten von 1 ng Hg/L, 245 ng As/L, 1,3 µg Sn/L und 1 ng Se/L eine eindeutige Effektivitätssteigerung der Eliminierung der entsprechenden metall- und metalloide-organischen Verbindungen aus dem Organismus.

### 3.6 Inhalation einer arsenorganischen Verbindung

Nach der Inhalation einer arsenorganischen Verbindung (Gemisch aus Tetramethyldiarsen, Trimethylarsen und anderen Arsenspezies in unbekannter Konzentration) wurden Urinanalysen des Probanden mittels Atomabsorptionsspektrometrie nach 1, 17, 24 und 69 Tagen durchgeführt. Die Normalwerte des Arsens im Urin werden mit  $< 25 \mu\text{g As/L}$  Urin angegeben [Bauzen 2002]. Die Gesamtarsenkonzentration betrug am Tag der Aufnahme  $15,6 \mu\text{g As/L}$  Urin und konnte nach 69 Tagen mit  $< 0,1 \mu\text{g As/L}$  Urin nicht mehr nachgewiesen werden.

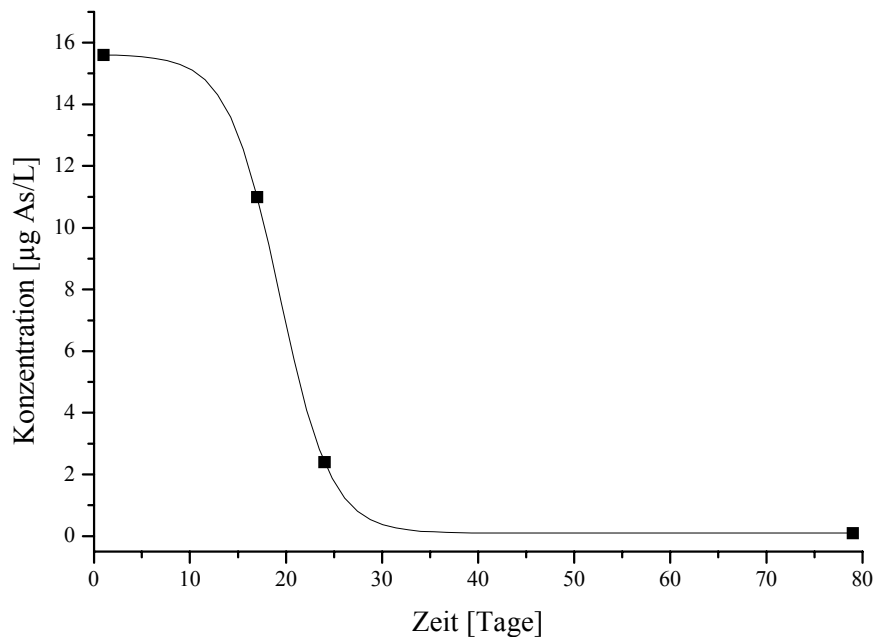


Abbildung 30 Ausscheidung von Arsen nach Inhalation einer Arsenverbindung

Da der Metabolismus des Arsens hauptsächlich über die Niere abläuft, kann seine Ausscheidung aus dem Organismus durch Analyse des Urins kontrolliert werden.

Anhand der graphischen Auftragung kann ein Erreichen der Basiswerte nach etwa 25 Tagen festgestellt werden. Dies steht in Übereinstimmung mit entsprechenden Angaben in der Literatur, so konnten beispielsweise Michaux et al. [2000] nach 24 Tagen die Einstellung von Basiswerten im Urin nach einer Arseninkorporation beobachten. ■

## 4 Stuhl

Im Gegensatz zu gut wasserlöslichen Abbauprodukten der aufgenommenen Nahrung, die von den Zellen der Leber über den Blutkreislauf in die Niere gelangen und von dort den Organismus mit dem Urin verlassen, werden schlecht wasserlösliche und damit auch im Blut schlecht lösliche Abbauprodukte von den Leberzellen in die Gallenkapillare abgegeben. Dort werden sie durch die emulgierende Wirkung der Gallensäure in Lösung gehalten, gelangen mit dieser in den Darm und werden über den Stuhl ausgeschieden.

Der Stuhl stellt einen eingedickten und durch Bakterien zersetzten, unverdaulichen Rest des Nahrungsbreis, welcher zu 75 % aus Wasser besteht, dar. Die übrigen Anteile setzen sich überwiegend aus Zellulose, Schleim, Bakterien, bei den bakteriellen Zersetzungs Vorgängen entstehenden Gärungs- und Fäulnisprodukten sowie Entgiftungsprodukten, Medikamenten und anderen von der Leber in den Darm abgegebenen Stoffwechselprodukten zusammen.

Je Gramm Stuhl existieren etwa zehn Milliarden Bakterien. Wie in vitro Studien zeigen, sind die Keime der Darmflora des Menschen in der Lage, anorganisches Quecksilber durch dessen Methylierung in organisch gebundenes Quecksilber zu überführen [Yannai und Berdicevsky 1991].

Bei der im Rahmen der praktischen Arbeit durchgeführten Hydrierung des Stuhls betrug das Probenvolumen 1,5 g, welches mit 6,5 mL *Seralpur* zu einer Suspension vermischt wurde. Die Stuhlproben besitzen einen pH-Wert zwischen 5,5 und 6,5. Mit Hilfe von 3 %-iger Salzsäure wurde die Probenlösung anschließend auf einen pH-Wert von 1 eingestellt. Letztlich erfolgte die kontrollierte Zugabe von 1 mL NaBH<sub>4</sub> über ein Septum in die geschlossene Hydrierapparatur.

Für die bezüglich der klinischen Matrix Stuhl durchgeführten Studien erfolgte die Einnahme der schwermetallbindenden Alge *Chlorella pyrenoidosa*. Nachfolgend wird nun die Analyse der Algenmatrix auf metall- und metalloidorganischen Verbindungen mittels Ionenchromatographie und Hydrierung des Algenmaterials vorgestellt.

#### 4.1 Analyse der Matrix der Alge *Chlorella pyrenoidosa* und Vergleich mit den Daten der Mineralstoffanalyse des Herstellers

Zur Charakterisierung der Algenmatrix erfolgte eine anionenaustauschchromatographische Untersuchung der in *Seralpur* löslichen Bestandteile der pulverisierten und durch einen 2µ-Filter geleiteten Alge *Chlorella pyrenoidosa*.

Die nachgewiesenen mittleren Konzentrationen der Dreifachbestimmung der Anionen Fluorid, Chlorid, Nitrat, Sulfat und Phosphat sind in Tabelle 18 dargestellt.

Anionen	Fluorid	Chlorid	Nitrat	Sulfat	Phosphat
Konzentration [mg/kg]	11	8	0,8	19	96

Tabelle 18 Anionengehalte in der Alge *Chlorella pyrenoidosa*

Eine weitere Analyse des Filtrates wurde über die Lösungsanalytik des ICP-MS zur Bestimmung der Gesamtgehalte der Elemente Antimon, Arsen, Bismut, Blei, Germanium, Iod, Quecksilber, Selen, Tellur und Zinn analog der Beschreibung in *Abschnitt 3.1.5* durchgeführt.

Hierbei lagen alle Konzentrationen der Elemente unter der Nachweisgrenze.

Dies zeigt in Analogie zu der Matrix Urin, dass die in den Proben vorhandenen metall- und metalloorganischen Verbindungen nicht durch Ausschütteln mit Lösungsmittel, hier *Seralpur*, in die lösliche Phase überführt werden können, sondern an Matrixkomponenten, wie beispielsweise Aminosäuren, Proteinen, Vitaminen und Mineralstoffen, gebunden vorliegen.

Im nachfolgenden Abschnitt wird gezeigt, dass zumindest eine teilweise Dekomposition der Algenmatrix via Hydrierung erreicht werden kann.

Die Ergebnisse der Mineralstoffanalyse des Herstellers der Alge *Chlorella pyrenoidosa* (Heidelberger Chlorella Distributions GmbH) und die mittels Hydrierung der pulverisierten Alge bestimmten Elementkonzentration sind in Tabelle 19 gegenübergestellt.

Element	As	Bi	Hg	I	Pb	Sb	Se	Sn
Gehalt laut Hersteller [mg/kg]	0,862	0,052	0,074	0,139	0,404	0,253	0,208	0,202
$\Sigma$ der hydrierbaren Anteile [mg/kg]	0,007	0,002	$3 \cdot 10^{-5}$	$1,8 \cdot 10^{-5}$	$< 8 \cdot 10^{-7}$	0,014	$< 1 \cdot 10^{-6}$	0,008
Hydriereeizienz der Alge [%]	0,8	3,8	0,04	0,01	$< 2 \cdot 10^{-4}$	5,5	$< 4,8 \cdot 10^{-4}$	4

Tabelle 19 Vergleich der für die Alge *Chlorella pyrenoidosa* nachgewiesenen und der gemäß Hersteller vorliegenden Elementkonzentrationen

Damit betragen die hydrierbaren Anteile der in der Alge *Chlorella pyrenoidosa* enthaltenen Elemente maximal 5,5 %. Diese nachweisbaren Spezies sind in Tabelle 20 aufgeführt.

Spezies	GeH <sub>4</sub>	AsH <sub>3</sub>	MeAsH <sub>2</sub>	Me <sub>2</sub> AsH	SnH <sub>4</sub>	MeSnH <sub>3</sub>	Me <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub>	Me <sub>3</sub> SnH
Konz. [ng/kg]	139	6517	85	189	6207	199	223	10
Spezies	BuSnH <sub>3</sub>	SbH <sub>3</sub>	MeSbH <sub>2</sub>	Me <sub>2</sub> SbH	MeI	Hg <sup>0</sup>	BiH <sub>3</sub>	
Konz. [ng/kg]	1251	13714	57	10	18	29	1462	

Tabelle 20 Nachgewiesene Spezies in der Alge *Chlorella pyrenoidosa*



#### 4.2 *Einnahme der Alge Chlorella pyrenoidosa mit Kontrolle des Ausscheidungsproduktes Stuhl*

Algen sind die meist genutzten Substrate für Metallakkumulationen. Im Zuge zahlreicher Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Zellen von Algen in der Lage sind, im Organismus signifikante Metallgehalte zu binden und auszuleiten [Madrid und Camara 2000].

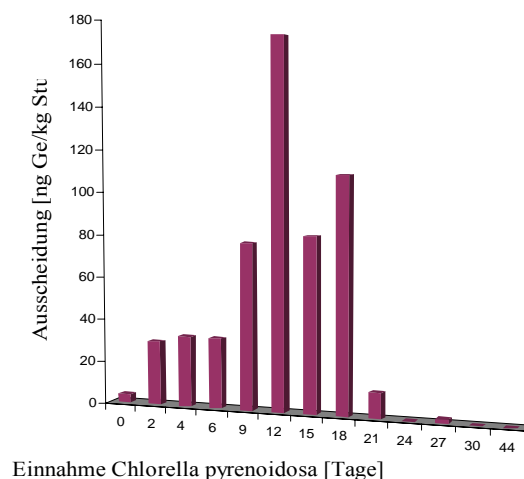
Die Chlorella-Alge vermag die im Verdauungskanal gelegenen Schwermetalle effektiv zu binden und zu deren Ausscheidung beizutragen [Klinghardt 1997]. Ihre Funktionsweise beruht auf der Störung des enterohepatischen Kreislaufes, indem die Resorption der Metalle und Metalloide in den unteren Darmabschnitten durch irreversible Bindung an die Zellmembran der Alge verhindert wird. Die Kontrolle des Abtransportes der Metall(oid)e aus dem Organismus geschieht über die Analyse des Ausscheidungsproduktes Stuhl.

Eine Aussage über den Verbleib der in der Algenmatrix zu geringen Anteilen enthaltenen Metalle und Metalloide bei Zufuhr der Alge in den Organismus kann hier nicht getroffen werden. Jedoch sind die Verhältnisse der detektierten metall- und metalloïdorganischen Verbindungen durch die Konstanthaltung der eingenommenen Menge des Präparates aussagekräftig.

Die Alge *Chlorella pyrenoidosa* wurde von einem unbelasteten Probanden über einen Zeitraum von vier Wochen mit einer Dosierung von vier Gramm pro Tag jeweils vor den Mahlzeiten zerkaut eingenommen. Das Zerkleinern der Alge im Mund bewirkt eine Oberflächenvergrößerung des adsorbierenden Zellmaterials, sodass eine Bindung von Metallen und Metalloiden sofort nach der oralen Zufuhr und nicht erst nach ihrer Zersetzung im Magen bzw. Darm eintreten kann. Die Stuhlprobennahme erfolgte jeden zweiten bis dritten Tag, die im Stuhl nachgewiesenen metall- und metalloïdorganischen Verbindungen sind in Tabelle A10 des Anhangs aufgeführt. Als Blindprobe I und II werden die mittleren Konzentrationen der Stuhlproben vor und zwei Wochen nach Beendigung der Algeneinnahme bezeichnet.

Germanium ist ein Ultraspurenelement, welches in sehr geringen Mengen in der Nahrung enthalten ist. Der Metabolismus des Germaniums im menschlichen Körper ist weitestgehend ungeklärt. Lück et al. [1999] postulierten, dass der Großteil des zugeführten anorganischen Germaniums umgehend über den Urin wieder ausgeschieden wird und lediglich ein geringer Teil im Organismus verbleibt.

In der vorliegenden Studie wurde allerdings anorganisches Germanium im Stuhl nachgewiesen. Während die Stuhlprobe vor Beginn der Einnahme durchschnittlich 4 ng Ge/kg als anorganisches Germanium aufwies, wurden im Verlaufe der Studie Konzentrationen von bis zu 173 ng Ge/kg nachgewiesen. Die Abbildung 31 stellt den Konzentrationsverlauf der Germaniumausscheidung während der Versuchsdurchführung dar.



**Abbildung 31** Konzentrationsverlauf des anorganischen Germaniums in den Stuhlproben eines Probanden bei gleichzeitiger Einnahme der Alge *Chlorella pyrenoidosa*

Ab dem 24. Tag der Algeneinnahme enthielten die Stuhlproben kein anorganisches Germanium mehr. Weiterhin konnte zu keinem Zeitpunkt eine methylierte Germaniumkomponente nachgewiesen werden, wobei zu berücksichtigen ist, dass die Hauptausscheidung wahrscheinlich über den Urin erfolgt und somit über die Methylierung des im Organismus vorliegenden anorganischen Germaniums keine Aussage getroffen werden kann.

Werden das anorganische Arsen und seine methylierten Komponenten betrachtet, gibt die Untersuchung der Stuhlproben erstmalig Aufschluss über die Ausscheidung über die Faces im Gegensatz zu der oft analysierten Ausscheidung über den Urin, welche als Hauptausscheidungsart des Arsens genannt wird.

Die Anteile der Spezies in den hier analysierten Stuhlproben betragen 70 bis 95 % für anorganisches Arsen, 5 bis 20 % für MMA, 3 bis 11 % für DMA und 1 bis 2,5 % für TMA.

Die Eliminierung über den Stuhl weist im Gegensatz zu der über den Urin auf eine geringfügigere Metabolisierung des hydrierbaren anorganischen Arsens hin. Allerdings konnte in einigen Proben TMA detektiert werden, welches wahrscheinlich durch Methylierung im Körper entstanden ist, da es nicht inkorporiert wurde.

Der Konzentrationsverlauf der Arsenspezies ist in Abbildung 32 dargestellt.

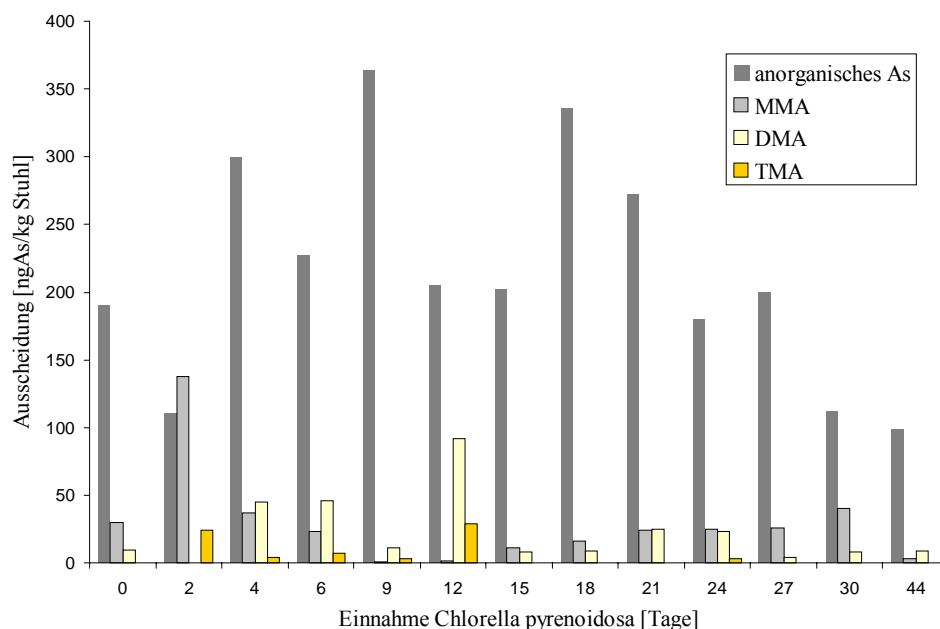


Abbildung 32 Konzentrationsverläufe der hydrierbaren Spezies des Arsens in den Stuhlproben eines Probanden bei gleichzeitiger Einnahme der Alge *Chlorella pyrenoidosa*

Die durch Einnahme der Alge *Chlorella pyrenoidosa* beeinflusste Eliminierung der Arsenkomponenten aus dem Organismus zeigt für die jeweiligen Ausscheidungsverläufe unterschiedliche zeitliche Maxima. Während die DMA-Konzentration in der Stuhlprobe des zwölften Tages den höchsten Wert aufweist, ist die MMA-Konzentration bereits nach dem zweiten Einnahmetag maximal, wohingegen die Ausscheidung des anorganischen Arsens über einen Zeitraum von 17 Tagen erhöht ist.

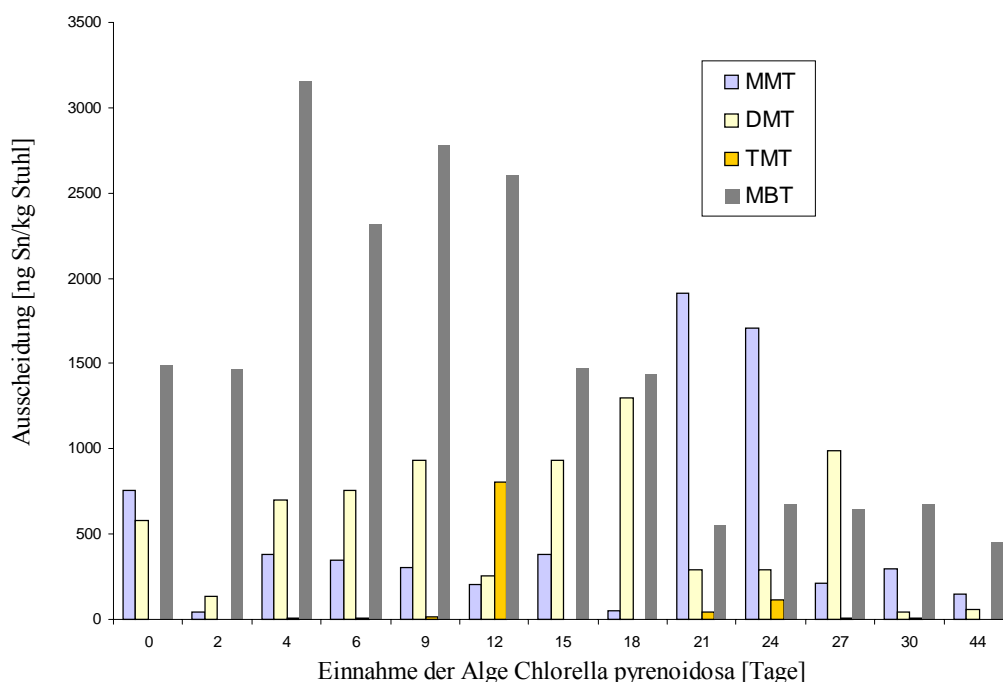
Ferner wurden sehr hohe Konzentrationen für das anorganische Zinn und das Monobutylzinn nachgewiesen. Die laut Mineralstoffanalyse des Herstellers in der pro Tag eingenommenen Dosis von vier Gramm enthaltene Menge Zinn beträgt 0,8 µg. Während die durchschnittliche Konzentration des anorganischen Zinns in den Stuhlproben vor Beginn der Einnahme der Algentabletten bereits 15,3 µg Sn/kg betrug, was ungefähr einem anorganischen Zinngehalt von 3,8 µg pro Probe entspricht, wurden durch die Einnahme des Präparates bis zu 61,3 µg Sn/kg, entsprechend 15,3 µg anorganischem Zinn pro Stuhlprobe nachgewiesen. Zwei Wochen nach Beendigung der Algenzufuhr wurden anorganische Zinnkonzentrationen von 20,3 µg Sn/kg detektiert.

Somit scheint die Einnahme der *Chlorella pyrenoidosa* einen erheblichen Einfluss auf die Eliminierung des anorganischen Zinns aus dem Organismus zu haben.

Jedoch sind die anorganischen Zinnverbindungen wasserlöslich und werden im Organismus kaum absorbiert. Das Gros dieser Verbindungen wird ohne Metabolisierung direkt über die Faces wieder ausgeschieden, während der resorbierte Anteil den Körper über den Urin verlässt. Demnach sollte anorganisches Zinn im Organismus nicht eingelagert sein, obwohl der Ausscheidungsverlauf innerhalb der 30 Tage auf eine Mobilisierung schließen lässt. Zu berücksichtigen ist, dass Zinn als essentielles Spurenelement über die Nahrung mit etwa 4 g pro Tag aufgenommen wird und dem Organismus mit 0,2 mg/kg Körpergewicht zur Verfügung steht. Eine Erklärung für den Anstieg der anorganischen Zinnkonzentration während der Algenzufuhr im Stuhl wäre die forcierte Ausleitung der im Organismus für Stoffwechselvorgänge bereitgehaltenen Zinnvorräte.

Im Gegensatz dazu zeigen organische Zinnverbindungen eine hohe Fettlöslichkeit und besitzen damit die Fähigkeit im Organismus zu akkumulieren.

Die Konzentrationsverläufe der in den Stuhlproben nachgewiesenen organischen Zinnspesies sind in Abbildung 33 dargestellt.



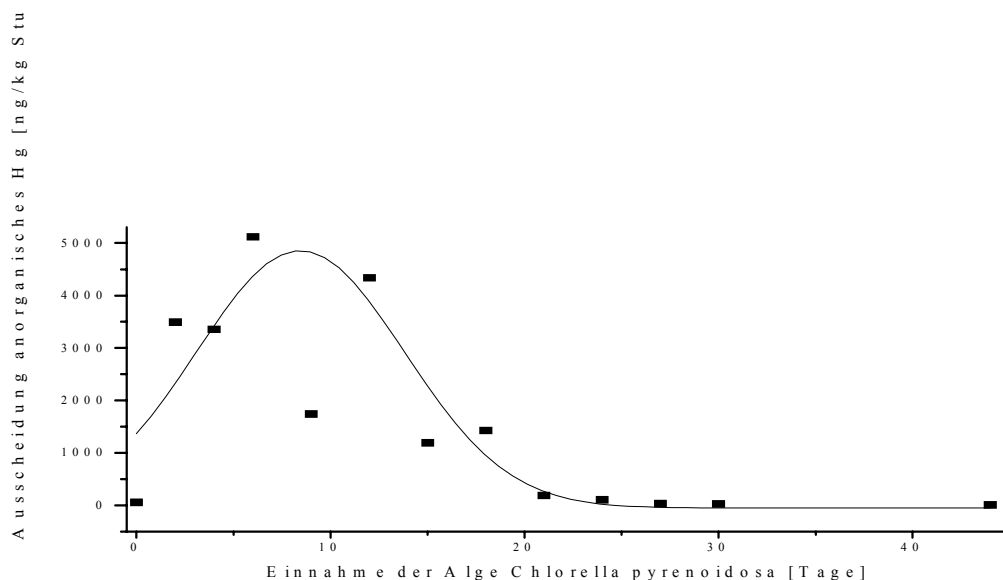
**Abbildung 33** Konzentrationsverläufe organischer Zinnspezies in den Stuhlproben eines Probanden bei gleichzeitiger Einnahme der Alge *Chlorella pyrenoidosa*

Für das Monobutylzinn zeigt sich ein Ausscheidungsanstieg im Bereich des vierten bis zwölften Tages, während die drei methylierten Zinnspezies in einem Zeitraum von ein bis drei Tagen erhöhte Konzentrationen in den Stuhlproben aufweisen. Anschließend fallen alle Konzentrationen unter die im Referenzurin vor Beginn der Einnahme der Algentabletten nachgewiesenen. Ob diesen Konzentrationserhöhungen die Mobilisierung der im Organismus vorliegenden organischen Zinnkomponenten zu Grunde liegt, kann anhand der Ergebnisse nicht eindeutig geklärt werden. Obendrein gilt für die Ausscheidung akkumulierter Zinnverbindungen aus dem Organismus die Eliminierung über die Niere als Hauptausscheidungspfad.

Die Ausscheidung des Quecksilbers aus dem Organismus findet zu 90 % über den Darm statt. Während Ishihara [2000] in Stuhlproben unbelasteter Probanden neben anorganischem Quecksilber auch Monomethylquecksilber in Anteilen von 9 bis 20 % nachweisen konnte, zeigen andere Studien [Berlin 1979, Engqvist et al. 1998] lediglich den Nachweis des anorganischen Quecksilbers in dem Ausscheidungsprodukt Stuhl.

Bezüglich der hier durchgeführten Analysen enthielten die Stuhlprobe des sechsten Tages neben 5 µg anorganischem Hg/kg Mono- und Dimethylquecksilber in Konzentrationen von 0,3 bzw. 9,6 µg Hg/kg Stuhl. Dies ist die einzige Probe, die diese drei Verbindungen nebeneinander aufweist.

Ferner zeigen die Konzentrationen des anorganischen Quecksilbers einen signifikanten Anstieg in den ersten Tagen nach Beginn der Algenzuführung. Abbildung 34 zeigt graphisch den Konzentrationsverlauf.



**Abbildung 34** Konzentrationsverlauf des anorganischen Quecksilbers in den Stuhlproben eines Probanden bei gleichzeitiger Einnahme der Alge *Chlorella pyrenoidosa*

Im Vergleich zu den Konzentrationen des anorganischen Quecksilbers in den Referenzproben im unteren ng/kg-Bereich, sind die nachgewiesenen Konzentrationen von 1,4 bis 5,1 µg Hg/kg Stuhl in den ersten zweieinhalb Wochen nach Beginn der Algeneinnahme deutlich erhöht. Dies lässt auf eine Mobilisierung des anorganischen Quecksilbers im Organismus durch dessen Bindung an das Zellmaterial der Alge schließen. Im Gegensatz dazu lassen die detektierten Konzentrationen der organischen Quecksilberverbindungen diesbezüglich keine Rückschlüsse zu.

Ferner gelang in den meisten Stuhlproben der Nachweis des Trimethylbismuts, wohingegen Mono- und Dimethylbismut lediglich in zwei Proben und anorganisches Bismut gar nicht gefunden wurden. Ein Zusammenhang zwischen der Einnahme der Alge und der Bismutausscheidung besteht nicht, jedoch könnte der Nachweis der trimethylierten Bismutverbindung ein Hinweis auf die Methylierung anorganisch aufgenommenen Bismuts im Organismus sein, da ein Großteil der Ausscheidung des Bismuts über den Stuhl stattfindet. Allerdings wurden weder mono- oder dimethylierte Komponenten nachgewiesen, noch wurde die Aufnahme der Nahrungsmittel kontrolliert, sodass bezüglich des Ursprungs des Bismuts keine Aussagen getroffen werden können.

In zwei der hier analysierten Proben gelang erstmalig der Nachweis anorganischen Tellurs in einer Stuhlprobe. Ein entsprechendes Chromatogramm ist in Abbildung 35 dargestellt.

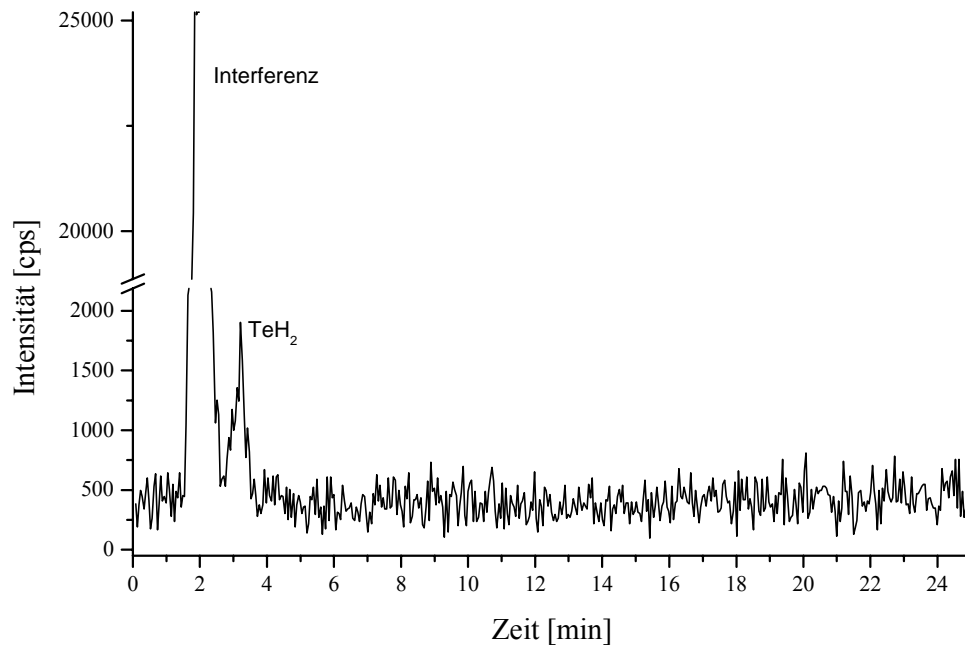


Abbildung 35 Chromatogramm des Elementes Tellur in einer hydrierten Stuhlprobe eines unbelasteten Probanden

Bei dem im Chromatogramm sichtbaren ersten Peak handelt es sich um eine Xenon-Interferenz. Das Isotop  $^{126}\text{Xenon}$ , welches im Analysengas Argon enthalten ist, wird als Störung auf der Masse 126 detektiert. Das Element Tellur besitzt acht stabile Isotope, jedoch ist mit dem Isotop  $^{126}\text{Tellur}$  bereits das mit den wenigsten Massenstörungen gewählt. Das Vorliegen des anorganischen Tellurs in zwei der analysierten Stuhlproben kann jedoch nicht gedeutet werden.

Tellur ist ein nicht essentielles Spurenelement, welches im Organismus in Form von Salzen als Begleiter anderer Elemente vorkommt, dessen Bedeutung bisher nicht hinreichend bekannt ist.



## 5 Atem, Speichel und Haar

### 5.1 Atem

Die Atmung des Menschen erfolgt durch die Nase oder den Mund über die Luftröhre und das Bronchialsystem in der Lunge, die durch Pumpbewegungen ein Druckgefälle erzeugt, wodurch es zur Einatmung (Inspiration) bzw. zur Ausatmung (Expiration) kommt. Der Atmungsprozess umfasst den Austausch von eingeatmetem Sauerstoff durch Kohlenstoffdioxid, welcher ausgeatmet wird. Je Atemzug werden von einem gesunden Erwachsenen etwa 0,5 Liter Luft bewegt. Beim Ausatmen verbleiben ungefähr zwei Liter Luft in der Lunge, wovon bei maximaler Expiration noch etwa 1,3 Liter ausgeatmet werden können. Mit 10 bis 15 Atemzügen pro Minute lässt sich das Minutenvolumen zu 5 bis 8 Litern berechnen.

Die Probennahme der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Atemproben erfolgte in 10 Liter Probennahmebehältern (*tedlar*) der Firma Supelco. Die Gasproben wurden mit Hilfe einer Drehschieberpumpe über ein Trockenrohr in ein Adsorptionsröhrchen bei  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  einkondensiert. Hierbei steht die Abtrennung der Matrixgase, vornehmlich des Kohlenstoffdioxids mit einem Sublimationspunkt von  $-78,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  [Synowietz und Schäfer 1984], gegenüber einer quantitativen Anreicherung der Probe (*Abschnitt 2.2.2.2*) im Vordergrund. Bei einer Einbringung von Kohlenstoffdioxid ins Plasma des ICP-MS besteht einerseits die Möglichkeit des Erlöschens des Plasmas. Weiterhin kommt es durch die Anwesenheit des  $\text{CO}_2$  im Plasma zur Bildung diverser Sauerstoffverbindungen, welche zu einer extremen Zunahme der isobaren Interferenzen führen.

Haas und Feldmann [2000] untersuchten die Stabilität gasförmiger antimon-, arsen- und zinnorganischer Verbindungen in 10 Liter *tedlar bags* über einen Zeitraum von fünf Wochen, in denen die Proben bei  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  und  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  unter Lichtausschluss gelagert wurden. Bereits nach acht Stunden traten bezüglich der Lagerung bei  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  Verluste von bis zu 35 % (Trimethylbismut) auf. Nach fünf Wochen konnte keine Verbindung mehr quantitativ nachgewiesen werden. Die bei  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  gelagerten Probennahmebehälter zeigten bereits nach acht Stunden bei  $\frac{4}{5}$  der Spezies Verluste, Trimethylbismut konnte nicht mehr detektiert werden. Darüber hinaus wurde eine Disproportionierung des  $\text{Me}_3\text{SnH}$  in  $\text{Me}_2\text{SnH}_2$  und  $\text{Me}_4\text{Sn}$  diskutiert. Aus den genannten Gründen erfolgte die Einkondensation der Atemproben zur Vermeidung von Verlusten unmittelbar nach der Probennahme.

### ***Analyse der Atemproben von Amalgam-Probanden und Probanden ohne Amalgamfüllungen***

Die Probennahme bei den Amalgam-Probanden wurde nach folgendem Muster durchgeführt:

- unmittelbar nach dem Aufstehen ohne Zähneputzen oder Nahrungsaufnahme  
Atemproben I und II
- nach 15 Minuten intensivem Kaugummi kauen  
Atemproben III und IV
- nach dem Zähneputzen bzw. Trinken eines heißen Getränkes  
Atemprobe V

Hierbei wurden sämtliche Proben in der oben angegebenen Reihenfolge innerhalb von 30 Minuten genommen.

Ein Prinzip zur Erfassung der Summe der Oberflächen der Amalgamfüllungen basiert auf der Wertigkeitsermittlung der Füllungen. Eine vollständig mit Amalgam bedeckte Kaufläche eines Zahnes erhält die Wertigkeit zwei, seitliche Füllungen erhalten die Wertigkeit eins.

Die Wertigkeit der Füllungen der Amalgam-Probanden ergibt sich damit zu:

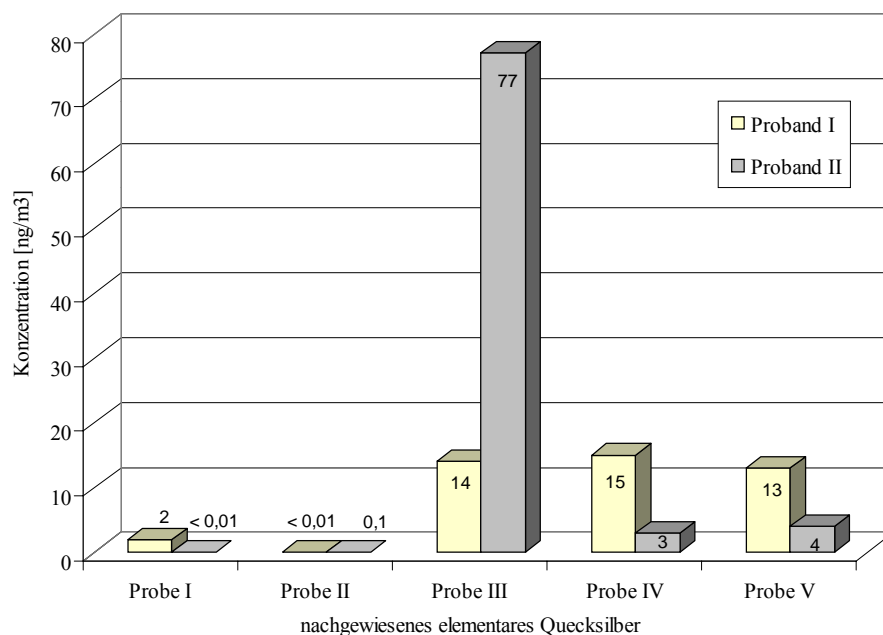
- Proband I: 22 (14 Füllungen, davon wurden 8 die Wertigkeit 2 zugeordnet)
- Proband II: 26 (16 Füllungen, davon wurden 10 die Wertigkeit 2 zugeordnet)

Die Atemprobennahme des Probanden ohne Amalgamfüllungen (Proband III) erfolgte nach 15-minütigem intensivem Kaugummi kauen.

Sowohl zum Kaugummi als auch zur benutzten Zahnpasta existieren keine Herstellerangaben über den Zusatz von den hier relevanten Metallen oder Metalloiden.

Die nachgewiesenen Spezies der Elemente Arsen, Bismut, Iod, Quecksilber und Selen sind in Tabelle A11 des Anhangs aufgeführt.

Während in der Ausatemluft des Probanden III kein Quecksilber nachgewiesen wurde, enthalten die unmittelbar nach dem Aufstehen genommenen Atemproben der Probanden I und II elementares Quecksilber in geringen Konzentrationen (2 und 0,1 ng Hg/m<sup>3</sup>). Das intensive Kaugummikauen scheint eine Auswirkung auf die Konzentration des elementaren Quecksilbers in der Atemluft zu haben. Die Proben III und IV enthalten mit 14 und 15 ng Hg/m<sup>3</sup> für Proband I mit einer Amalgam-Wertigkeit von 22 und 77 und 3 ng Hg/m<sup>3</sup> für Proband II mit einer Amalgam-Wertigkeit von 26 deutlich höhere Konzentrationen. Aus dem Reinigen der Zähne und dem Trinken einer heißen Flüssigkeit können keine weiteren signifikanten Konzentrationsveränderungen abgeleitet werden. Den Verlauf der Ausscheidung des elementaren Quecksilbers mit der Atemluft zeigt Abbildung 36.



**Abbildung 36** Elementares Quecksilber in Atemproben von zwei Amalgamträgern

Die Menge Quecksilber, die täglich aus den Zahnfüllungen entweichen kann, wird von Sandborgh-Englund [1998] mit 2 bis 17 µg angegeben. Dies entspricht einer freigesetzten Menge von 1,4 bis 12 ng/min. Diese kann sowohl mit der Expiration aus dem Körper befördert als auch inhaliert und in den Alveolen aufgenommen werden. Von dort gelangt das Quecksilber in die Erythrozyten im Blut und mit diesen innerhalb weniger Minuten in den gesamten Körper.

Das Kauen von Kaugummi oder der Verzehr von Speisen mit niedrigem pH-Wert führen zu einer Erhöhung der Quecksilberdampfgehalte in der Mundhöhle [Gebel und Dunkelberg 1996]. Die gefundene Konzentration von  $77 \text{ ng Hg/m}^3$  in der Ausatemluft von Proband II nach 15-minütigem Kaugummikauen entspricht einem vorliegenden Quecksilbergehalt von  $0,77 \text{ ng}$  in einem zehn Liter Probennahmebeutel. Bei einer resultierenden Befüllzeit von ca. zwei Minuten kalkuliert sich die nachgewiesene Konzentration zu  $0,39 \text{ ng/min}$ .

Pecheyran et al. [2000] wiesen in der Stadtluft der Stadt Bordeaux in Frankreich durchschnittlich  $2,7 \text{ ng elementares Hg/m}^3$  nach, während die Konzentrationen in Tiefgaragen und über offenen Parkplätzen zwischen  $0,9$  und  $14,6 \text{ ng Hg/m}^3$  lagen. Damit konnten hier in der Atemluft eines Amalgamträgers mit 16 Füllungen höhere Konzentrationen für elementares Quecksilber nachgewiesen werden als in der Stadtluft über einer Großstadt.

Feldmann [1995] detektierte bei der Analyse von Atemproben eines Amalgamträgers mittels GC/ICP-MS-Kopplung neben anorganischem Quecksilber in einem Konzentrationsbereich von  $40$  bis  $1200 \text{ ng/m}^3$  Dimethylquecksilber in Konzentrationen zwischen  $100$  und  $150 \text{ ng Hg/m}^3$ .

Eine Reproduktion dieses Dimethylquecksilbernachweises in der Atemluft von Amalgamträgern war bisher jedoch selbst mit einer GC/AFS-Kopplung [Hippler 2002] nicht möglich.

Feldmann et al. [1996] wiesen mittels Multielement-Multispezies-Analyse als einzige Spezies Dimethylselen in Atemproben von sechs Probanden, von denen vier Amalgamfüllungen besitzen, in Konzentrationen zwischen  $80$  und  $990 \text{ ng Se/m}^3$  nach.

Das mit der Nahrung aufgenommene essentielle Element Selen wird im menschlichen Organismus zu Selenwasserstoff metabolisiert. Die aufeinander folgende Methylierung des Selenwasserstoffes in die mono-, di- und trimethylierte Form des Selens wird als Entgiftungsprozess des menschlichen Körpers angesehen. Hierbei geschieht die Abgabe des Dimethylselens via Expiration.

In den Atemproben aller drei Versuchspersonen wurde Dimethylselen in Konzentrationen von 15 bis 710 ng Se/m<sup>3</sup> nachgewiesen. Diese stimmen mit denen von Feldmann et al. gefundenen Konzentrationen in Atemproben überein.

Im Vergleich zu der Konzentration des Dimethylselen in der Atmosphäre, die mit 1 ng Se/m<sup>3</sup> angegeben wird [Jiang et al. 1983], ist die in der Atemluft unkontaminierter Personen signifikant höher.

Zwischen den detektierten Dimethylselenkonzentrationen wie auch den Konzentrationen der übrigen nachgewiesenen Spezies anorganisches Arsen, Dimethylarsen, Methyljod und Monomethylbismut und dem Kauen von Kaugummi oder dem Trinken eines heißen Getränkes besteht kein Zusammenhang.

Für das anorganische Arsen wurden bei allen drei Probanden Konzentrationen von 2 bis 12 ng As/m<sup>3</sup> gefunden, wohingegen die Konzentration des DMA (zwischen 1 und 196 ng As/m<sup>3</sup>) durchschnittlich um den Faktor 10 höher liegt. MMA wurde nicht nachgewiesen.

Vom Organismus aufgenommenes Arsenat wird chemisch im Blut und enzymatisch in der Leber zu Arsenit reduziert. Das As<sup>III</sup> wird dann durch einen nicht enzymatisch gesteuerten Mechanismus zu Monomethylarsonsäure (MMA<sup>V</sup>) methyliert. Diese wird im Weiteren enzymatisch in Dimethylarsinsäure (DMA<sup>V</sup>) umgewandelt. Die Hauptausscheidung des Arsens aus dem Organismus findet über die Niere statt. Im Urin liegen das anorganische Arsen mit Anteilen bis zu 30 %, das MMA mit Anteilen von 10 bis 20 % und das DMA mit Anteilen bis zu 80 % vor.

Die prozentuale Verteilung der hydrierbaren Arsenspezies in der Expiration ähnelt der im Urin, wobei DMA die Hauptkomponente ist.

Die detektierten mittleren Konzentrationen des Methyljods liegen bei 4,6 ng Iod/m<sup>3</sup> für Proband I und II, während die Expirationsluft von Proband III kein MeI aufweist. Eventuell ist dies auf die Verwendung von jodiertem Kochsalz bei der Speisenzubereitung bei Proband I und II im Gegensatz zu Proband III zurückzuführen.

Die Atemluft aller Probanden weist Monomethylbismut in durchschnittlicher Konzentration von 28 ng Bi/m<sup>3</sup> auf. Weder anorganisches noch höher methyliertes Bismut wurde nachgewiesen.

## 5.2 Speichel

Die Matrix Speichel stellt ein geruchs- und geschmacksneutrales Mischsekret dar, von dem ein gesunder Erwachsener täglich 0,5 bis 1 Liter produziert.

Die Speichelflüssigkeit besitzt einen pH-Wert zwischen 5,8 und 7,1. Sie besteht zu 99,5 % aus Wasser und enthält als weitere Substanzen ca. 1,4 bis 1,6 g Eiweiß pro Liter als Schleim, ferner Ammoniak, Harnsäure, Harnstoff, Enzyme der Kohlenhydratvorverdauung, kleine Mengen Folsäure, Vitamin C und Elektrolyte.

Der Speichel dient zum Feuchthalten der Mundhöhle, Benetzen, Durchdringen und Schlupfrigmachen der Speisen und Lösen der Geschmacksstoffe. Seine Absonderung wird durch chemische und mechanische Mundschleimhautreizung reflektorisch ausgelöst.

Krauß et al. [1998] wiesen eine fast lineare Korrelation zwischen dem Quecksilbergesamtgehalt im Speichel und der Zahl der Amalgamfüllungen nach. Bei Probanden mit ein bis fünf Füllungen betrug die durchschnittliche Belastung 12,6 µg Hg/L in der Ruhephase und 20,2 µg Hg/L nach dem Kauen von Kaugummi. Testpersonen mit 13 bis 16 Füllungen wiesen signifikant höhere Konzentrationen auf. Ihr Speichel enthielt durchschnittlich 34,4 µg Hg/L in der Ruhe- und 67,0 µg Hg/L nach der Kauphase. Im Speichel von amalgamfreien Probanden wurde kein Quecksilber detektiert.

Mayer et al. [1994] analysierten Speichelproben von Probanden mit mehr als 12 Amalgamfüllungen und wiesen im Ruhespeichel mittlere Konzentrationen von 32,7 µg Hg/L nach, wohingegen der Speichel nach dem Kauen von Kaugummi durchschnittlich 53,8 µg Hg/L enthielt.

Bedingt durch die Heterogenität des Materials Speichel und die unterschiedlichen Bindungsformen des Quecksilbers im Speichel ist per Gesamtgehaltsbestimmung allerdings keine zuverlässige Aussage über die tatsächliche Belastung des Organismus möglich.

Elementares Quecksilber wird bei der oralen Aufnahme auf Grund seiner kleinen Oberfläche vom Darm nur zu etwa 0,01 % resorbiert [Streit 1991].

Nach Untersuchungen der WHO (*World Health Organisation*) [1991] über die Aufnahme und Resorptionsrate von Quecksilber in Abhängigkeit von der Bindungsform und den Belastungspfaden resultiert der überwiegende Teil der Quecksilberresorption aus Amalgamfüllungen aus der inhalativen Aufnahme von Quecksilberdampf und nicht aus dem Verschlucken von Abrieb oder Korrosionsprodukten. Dies bestätigten Gebel und Dunkelberg [1996], die für das Kauen von Kaugummi oder den Verzehr von Speisen mit niedrigem pH-Wert bei Probanden mit Amalgamfüllungen eine Erhöhung der Quecksilberdampfgehalte in der Mundhöhle nachwiesen.

Mit kurzzeitig hohen Konzentrationen von elementarem Quecksilber im Speichel ist nach dem Einsetzen von Amalgamfüllungen sowie vorübergehend nach dem Kauen beziehungsweise im Falle von Zähneknirschen zu rechnen. Wegen der geringen Resorption des elementaren Quecksilbers über den Magen-Darm-Trakt kann hieraus jedoch nicht auf eine deutlich erhöhte Belastung des Organismus geschlossen werden.

### 5.2.1 Analyse der Matrix Speichel

Zur Charakterisierung der Matrix Speichel erfolgte die Analyse der löslichen Bestandteile der Speichelproben mittels Anionenaustauschchromatographie. Der Speichel eines Probanden ohne Amalgamfüllungen wurde über einen 2 $\mu$ -Filter geleitet und die Lösung mittels Dreifachbestimmung auf das Vorliegen der Anionen Fluorid, Chlorid, Bromid, Nitrat, Sulfat und Phosphat hin untersucht. Die erhaltenen mittleren Konzentrationen sind in Tabelle 21 aufgeführt.

Anionen	Fluorid	Chlorid	Bromid	Nitrat	Sulfat	Phosphat
Konzentration [mg/L]	17	282	28	29	15	228

Tabelle 21 Anionengehalte der Matrix Speichel

Die Normalwerte der Chloridausscheidung über den Speichel liegen im Bereich von 0,3-2,2 g/L, Angaben über die Konzentrationsbereiche weiterer Anionen können der einschlägigen Literatur nicht entnommen werden.

Zur weiteren Charakterisierung der Matrix Speichel dient die Lösungsanalytik des ICP-MS zur Bestimmung der Gesamtgehalte der Elemente Antimon, Arsen, Bismut, Blei, Germanium, Iod, Quecksilber, Selen, Tellur und Zinn. Die löslichen Speichelbestandteile wurden dem ICP-MS direkt zugeführt, hierbei lagen lediglich die Konzentrationen der Elemente Arsen und Iod oberhalb der Nachweisgrenzen.

Element	<sup>73</sup> Ge	<sup>75</sup> As	<sup>77</sup> Se	<sup>120</sup> Sn	<sup>121</sup> Sb	<sup>126</sup> Te	<sup>127</sup> I	<sup>202</sup> Hg	<sup>208</sup> Pb	<sup>209</sup> Bi
Konzentration [µg/L]	< 10,7	*18	< 15,4	< 2,7	< 0,8	< 3,4	3	< 1,6	< 0,5	< 0,3

\* ohne Matrixkorrektur

Tabelle 22 Gesamtgehalte der Metalle und Metalloide im Speichel

Unter Berücksichtigung der Argoninterferenz <sup>40</sup>Ar<sup>35</sup>Cl (Abschnitt 3.1.5) ergibt sich durch das Vorliegen von 0,28 g Cl/ L Speichel für das Element Arsen eine Matrixkorrektur der Konzentration auf < 0,8 µg As/L.



### 5.2.2 Speichelanalyse nach der Entfernung von Amalgamfüllungen

Im Zuge der hier durchgeführten Studie wurden Speichelproben eines Probanden vor und nach der Entfernung seiner vier Amalgamfüllungen mit einer Wertigkeit von 7 auf das Vorliegen von metall- und metalloidorganischen Verbindungen hin analysiert. Die Proben der Mundflüssigkeit wurden vor (Probe I) und 24 Stunde nach (Probe II) der Entfernung der Füllungen ohne vorherige Nahrungsaufnahme nach dem Zähneputzen und 5-minütigem Kaugummikauen gewonnen. Eine weitere Probennahme (III) erfolgte unmittelbar nach der Entfernung des Amalgams vor der erneuten Füllung der Zahnkavitäten durch 5-minütiges Mischen des Speichels mit 2,5 g der Alge *Chlorella pyrenoidosa*. Diese wurde zur Vergrößerung ihrer Oberfläche und damit zur Erhöhung der Bindungskapazität für die vorliegenden Metall(oid)e und ihre Verbindungen pulverisiert eingesetzt.

Bei der Hydrierung des Speichels betrug das Probenvolumen jeweils 4 mL. Die Speichelproben besaßen einen pH-Wert von etwa 6,5. Zur Einstellung der vorliegenden Probenlösung auf einen pH-Wert  $\leq 1$  wurde 3%-ige Salzsäure benutzt. Anschließend erfolgte die langsame Zugabe von 1 mL  $\text{NaBH}_4$  über ein Septum in die geschlossene Hydrierapparatur.

Die in den Speichelproben nachgewiesenen Spezies sind in Tabelle 23 aufgeführt, dabei wurden die in der Alge enthaltenen metall- und metalloorganischen Komponenten (Tabelle 19, S. 138) von denen in der Speichelprobe III detektierten subtrahiert.

Konzentration [ng/L] Spezies	Speichelprobe I	Speichelprobe II	Speichelprobe III
GeH <sub>4</sub>	2	1	< 0,15
MeGeH <sub>3</sub>	1	< 0,15	< 0,15
Me <sub>2</sub> GeH <sub>2</sub>	0,5	< 0,15	< 0,15
MeAsH <sub>2</sub>	1	< 0,05	< 0,05
SnH <sub>4</sub>	96229	71736	202319
MeSnH <sub>3</sub>	8686	3419	1567
Me <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub>	510	383	196
Me <sub>3</sub> SnH	268	99	2168
BuSnH <sub>3</sub>	92	< 0,05	< 0,05
Hg <sup>0</sup>	22	< 0,03	*
MeHgH	< 0,03	< 0,03	34879
Me <sub>2</sub> Hg	< 0,03	< 0,03	3080
EtMeHg	< 0,03	< 0,03	16404

\* keine Angabe möglich, Peak des elementaren Hg wird durch den Peak des MeHgH überlagert

**Tabelle 23** Nachgewiesene hydrierbare Spezies in drei Speichelproben vor und nach der Entfernung von vier Amalgamfüllungen

Während in der vor der Amalgamentfernung genommenen Speichelprobe anorganisches Quecksilber mit einer Konzentration von 22 ng Hg/L nachgewiesen wurde, wurde in der Probe der Mundflüssigkeit, welche einen Tag nach der Entfernung der Füllungen gewonnen wurde, kein Quecksilber detektiert. Da vor den Probennahmen keine Nahrung aufgenommen wurde, kann auf ein Entweichen des in der Speichelprobe I gefundenen anorganischen Quecksilbers aus den Amalgamfüllungen geschlossen werden.

Das Chromatogramm des Elementes Quecksilbers für die Speichelprobe I ist in der Abbildung 37 dargestellt.

Wie bereits erwähnt, kalkulierte Sandborg-Englund [1998] die Menge Quecksilber, die täglich aus den Zahnfüllungen entweichen kann, auf 2 bis 17  $\mu\text{g}$ . Dies kann in der hier durchgeführten Studie verifiziert werden, denn bei einer täglichen Speichelproduktion zwischen 0,5 und 1 Liter berechnet sich der hier nachgewiesene Gehalt auf 3,2 bis 6,3  $\mu\text{g}$  pro Tag.

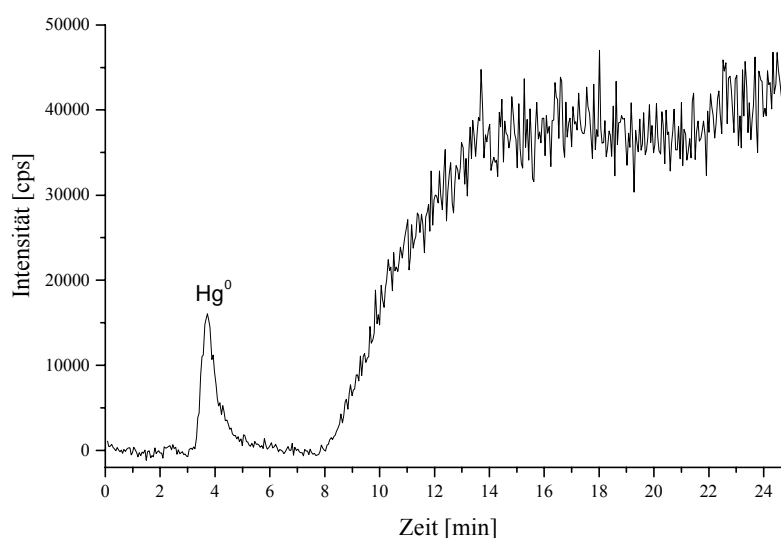


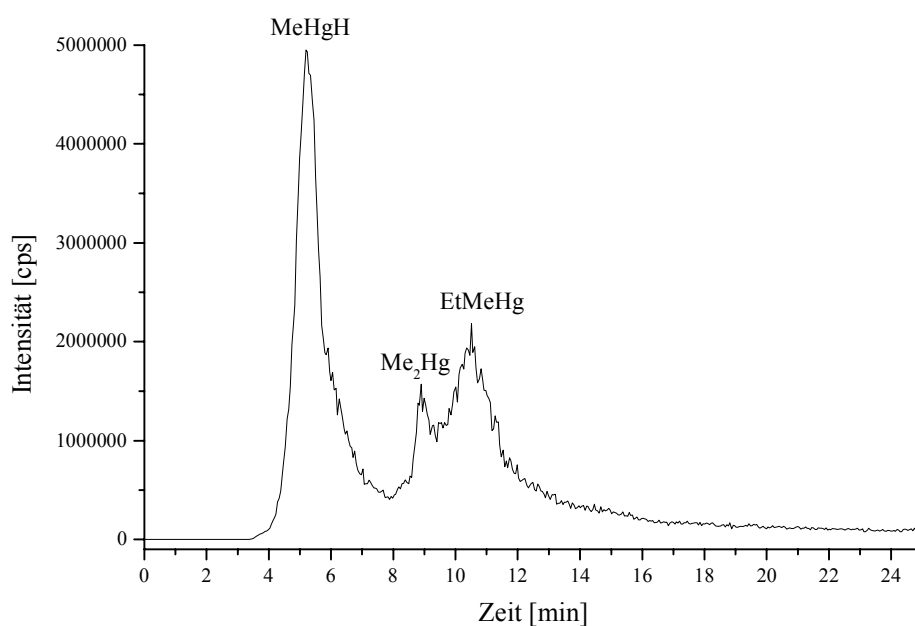
Abbildung 37 Chromatogramm des Elementes Quecksilber in einer Speichelprobe eines Amalgamträgers

Die zur Bindung des unmittelbar nach der Entfernung der vier Amalgamfüllungen in der Mundhöhle vorhandenen Quecksilbers verabreichte Alge enthält als einzige hier nachweisbare Quecksilberverbindung das anorganische Quecksilber mit einer Konzentration von 29 ng Hg/kg.

Die Speichelprobe III hingegen enthält die hier erstmalig in Humanspeichel nachgewiesenen Quecksilberspezies Monomethyl-, Dimethyl- und Ethylmethylquecksilber in Konzentrationen von 35, 3 und 16  $\mu\text{g}$  Hg/L, welche auf eine enorme Quecksilberbelastung bei der Entfernung der Füllungen schließen lassen.

Damit liegt die punktuelle Belastung unmittelbar nach dem Lösen der Füllungen aus den Zähnen mit einer Gesamtkonzentration an methylierten Quecksilberverbindungen von  $54,4 \mu\text{g Hg/L}$  deutlich über dem für Quecksilber angegebenen Normalwert im Speichel von  $< 20 \mu\text{g Hg/L}$ .

Das Chromatogramm des Quecksilbers für die Speichelprobe III ist in Abbildung 38 dargestellt.



**Abbildung 38** Chromatogramm des Elementes Quecksilber für eine unmittelbar nach der Amalgamentfernung genommene Speichelprobe

Yannai und Berdicevsky [1991] sowie Huppertz [1998] zeigten, dass Keime der Mundflora des Menschen in der Lage sind, anorganisches Quecksilber durch dessen Methylierung in organisch gebundenes Quecksilber zu überführen.

So konnte die Bildung des Monomethylquecksilbers durch die Bakterien *Streptococcus mitior*, *Streptococcus mutans* und *Streptococcus sanguis* der Mundflora, die Quecksilberchlorid und pulverisiertem Amalgam als Quecksilberquellen ausgesetzt waren, nach vier Tagen Inkubationszeit nachgewiesen werden [Heintze et al. 1983].

Ebenso fördert die Anwesenheit der Vitamine C und E den chemischen Prozess der Umwandlung von anorganischem Quecksilber und Zinn in die entsprechenden Methylverbindungen [Carl 2002].

Die hier nachgewiesenen methylierten Quecksilberspezies lassen auf eine Methylierung des im Amalgam vorhandenen Quecksilbers innerhalb eines Zeitraumes von fünf Minuten schließen.

Durch die reversible Bindung des im Mundraum vorliegenden methylierten Quecksilbers an die Alge und anschließendes Lösen von der Algenmatrix durch die Hydrierung wurde das methylierte Quecksilber, welches sonst durch Bindung an Eiweiße oder andere Speichelbestandteile nicht nachweisbar gewesen wäre, detektiert.

Erstmalig wurde in der vorliegenden Arbeit der Nachweis von anorganischem Zinn und dessen methylierten und butylierten Analoga im Speichel erbracht. Die Konzentrationen des anorganischen Zinns der drei Speichelproben von 96, 72 und 202 mg Sn/L und der organischen Zinnverbindungen von 9,5, 3,9 und 3,9 mg Sn/L zeigen ein signifikantes Maximum des Gesamtgehaltes direkt nach der Entfernung der Füllungen. Die nachgewiesenen Konzentrationen liegen deutlich über den bisher für Zinn gefundenen Normalwerten im Speichel von  $< 1,8 \mu\text{g Sn /L}$  [Meyer und Schwenker 2002] bzw.  $< 3,5 \mu\text{g Sn/L}$  [Bauzen 2002].

Abbildung 39 zeigt die Zusammensetzung eines heute verwendeten Amalgams, das zu 20,4 % aus Zinn besteht.

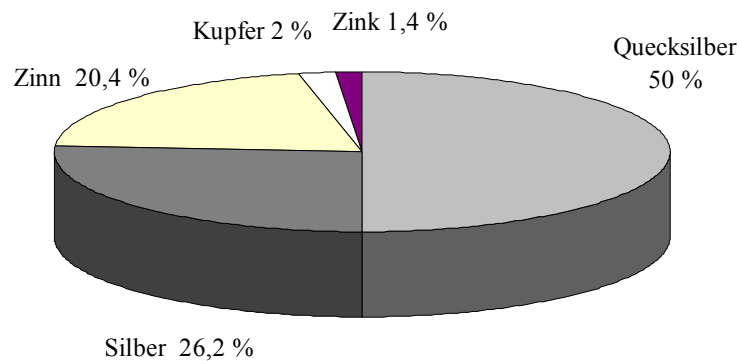


Abbildung 39 Zusammensetzung des in der Zahnmedizin überwiegend verwendeten gamma-2-freien Amalgams

Die Zinnkonzentration im Speichel einen Tag nach der Entfernung der Amalgamfüllungen liegt dennoch weit über den Normalwerten. Aus den Amalgamfüllungen könnte das Zinn im Laufe der Zeit in die umgebende Schleimhaut und das Dentin oder in die Umgebung des Zahnes und von dort in dessen Wurzel gelangt sein. Ein Lösen dieses angereicherten Zinns und eine Methylierung durch die Bakterien der Mundflora wären eine mögliche Erklärung für die nachgewiesenen hohen Zinnkonzentrationen.

Die durchschnittliche tägliche Zinnaufnahme in den Organismus, vorzugsweise als organischer Komplex, beträgt etwa 4 mg. Davon werden vermutlich nur sehr geringe Mengen im Körper resorbiert.

Zinn ist für den Menschen möglicherweise ein essentielles Spurenelement. Es kommt in fast allen Organen vor, besonders im Magen-Darm-Trakt sowie in der Leber und Lunge. Die Funktionen des Zinns im Körper des Menschen sind bis heute nicht genau bekannt. Es wird vermutet, dass Zinn an den körpereigenen Abbau- und Oxidationsprozessen und am Stoffwechselvorgang von Proteinen beteiligt ist.

### 5.3 Haar

Eine weitere Ausscheidungsmöglichkeit für metall- und metalloideorganische Verbindungen aus dem Organismus bietet das Haar. Seit die Quecksilberausscheidung erstmalig über das Kopfhaar nachgewiesen wurde, stellt dessen Analyse eine gute Alternative für die Bestimmung der Körperbelastung des Menschen mit Metallen oder Metalloiden dar. Im Gegensatz zu Blut- oder Urinanalysen können sehr lange Zeitspannen auf Spuren von Fremdstoffen untersucht werden. Die Analysen erfolgen als Gesamtgehaltsbestimmung entweder des kompletten Haares oder der einzelnen Haarsegmente zur Ermittlung des Zeitpunktes der Inkorporation. Valentino et al. [1995] zeigten eine 200- bis 300mal höhere Quecksilberkonzentration im Kopfhaar als im Blut. Unterstützt wurden diese Angaben von Sarmani et al. [1997], die einen 250mal höheren Wert für die Methylquecksilberkonzentration im Kopfhaar als im Blut nachwiesen.

Im Gegensatz dazu konnten Nielsen et al. [1994] nach einer Methylquecksilberexposition von Mäusen keine Relation zu dessen Konzentration in der Körperbehaarung der Tiere herstellen.

### Analyse von Haarproben unbelasteter Probanden

In der vorliegenden Arbeit erfolgte die Analyse von Kopfhhaarproben zweier Probanden mittels HG/LT-GC/ICP-MS-Kopplung. Die fünf Zentimeter langen Haarproben wurden in 0,5 Zentimetersegmente geteilt und die mittels *Seralpur* erzeugte Suspension in der Feststoffapparatur hydriert. Die Ergebnisse der anschließenden Messungen sind in Tabelle 24 zusammengestellt.

	GeH <sub>4</sub> [ng/kg]	AsH <sub>3</sub> [ng/kg]	MeAsH <sub>2</sub> [ng/kg]	Me <sub>2</sub> AsH [ng/kg]	SbH <sub>3</sub> [ng/kg]	MeSbH <sub>2</sub> [ng/kg]
Proband I	6	39	3	2	2735	7
Proband II	2	24	3	3	1055	5
	SnH <sub>4</sub> [ng/kg]	MeSnH <sub>3</sub> [ng/kg]	Me <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub> [ng/kg]	Me <sub>3</sub> SnH [ng/kg]	Me <sub>4</sub> Sn [ng/kg]	BuSnH <sub>3</sub> [ng/kg]
Proband I	12530	103	86	56	< 0,4	1383
Proband II	16214	216	109	11	8	9661
	Hg <sup>0</sup> [ng/kg]	Hg? [ng/kg]	MeHgH [ng/kg]	EtMeHg [ng/kg]	BiH <sub>3</sub> [ng/kg]	
Proband I	11	6	4	10	17	
Proband II	12	5	13	15	29	

**Tabelle 24** Hydrierbare metall- und metalloïdorganische Spezies im Kopfhhaar von zwei Probanden

Mit 90,7 % für Proband I und 79,7 % für Proband II liegt der Hauptanteil des gefundenen Arsens anorganisch vor. Die Konzentrationen an MMA und DMA sind nahezu identisch. Die Normalwerte für den Arsengesamtgehalt werden von Leung [2000] mit < 1 mg As/kg angegeben, wobei die hier nachgewiesenen hydrierbaren Arsenspezies deutlich darunter liegen.



Die nachgewiesene Konzentration an anorganischem Antimon für Proband I liegt mit 2,7 µg Sb/kg um 62 % höher als die des Probanden II.

Weiterhin gelang der Nachweis von anorganischem Bismut im unteren ng/kg-Bereich.

Die prozentuale Verteilung der Zinnspezies ist in Tabelle 25 dargestellt.

	SnH <sub>4</sub> [%]	MeSnH <sub>3</sub> [%]	Me <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub> [%]	Me <sub>3</sub> SnH [%]	Me <sub>4</sub> Sn [%]	BuSnH <sub>3</sub> [%]
Proband I	88,5	0,7	0,6	0,4	$< 2,8 \cdot 10^{-4}$	9,8
Proband II	61,8	0,8	0,4	$< 0,1$	$< 0,1$	36,8

Tabelle 25 Prozentuale Verteilung der Zinnspezies in Kopfhhaarproben von zwei Probanden

Das anorganische Zinn stellt mit 88,5 und 61,8 % bei beiden Probanden den Hauptanteil dar. Mit Ausnahme des Butylzinntrihydrids mit 9,8 bzw. 36,8 % liegen die Anteile der organischen Zinnspezies bei beiden Probanden unter 2 %. Ein signifikanter Unterschied der Zinngesamtgehalte kann hier mit 14,2 µg Sn/kg für Proband I und 26,2 µg Sn/kg für Proband II, im Speziellen die um den Faktor 7 höhere Konzentration des Butylzinns bei Proband II, beobachtet werden.

Normalwerte für den Zinngehalt in Haaren konnten in der einschlägigen Literatur nicht gefunden werden. Die nachgewiesenen Butyzinnkonzentrationen könnten durch die hohe anthropogene Organozinnbelastung der Umwelt bedingt sein. Triorganozinnverbindungen werden als Biozide gegen Mikroorganismen wie Milben, Pilze, Bakterien und Algen in anderen Bereichen wie der Textil- und Papierindustrie (Schleimbekämpfung) verwendet. Nach neueren analytischen Untersuchungen wird Tributylzinn Bekleidungstextilien auf Grund seiner antibakteriellen Wirkung zugesetzt, wobei Gehalte von bis zu 99 µg/kg Textilien nachgewiesen wurden.

Bei beiden Probanden wurde sowohl anorganisches als auch Monomethyl- und Ethylmethylquecksilber neben der unbekannten Spezies mit der Retentionszeit von 4,2 Minuten nachgewiesen. Abbildung 40 zeigt das Chromatogramm des Quecksilbers der Haaranalyse des Probanden II.

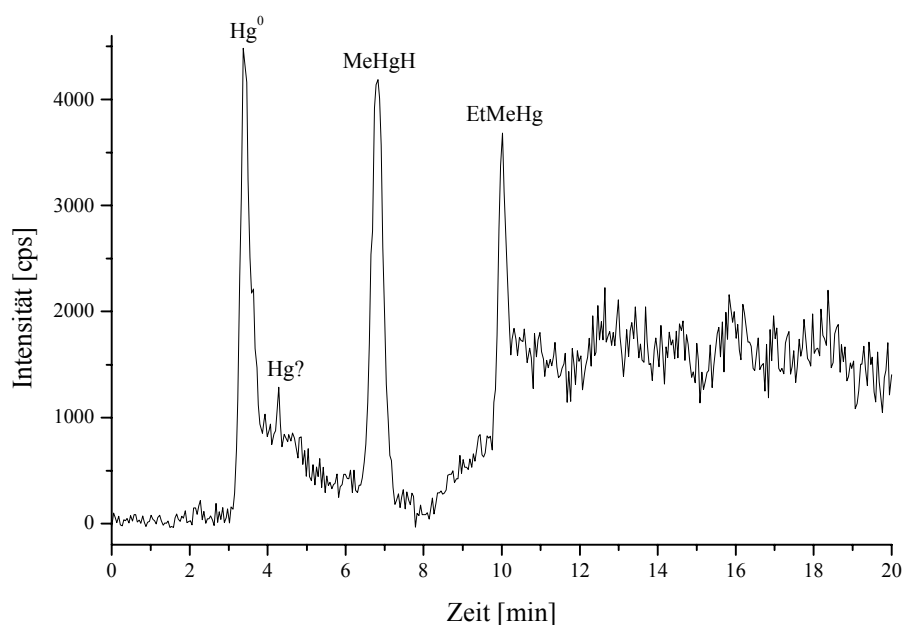


Abbildung 40 Chromatogramm des Quecksilbers zu einer Kopfhhaarprobe

Die Deutung der für die jeweiligen metall- und metalloorganischen Verbindungen gefundenen Konzentrationen und deren prozentualer Verteilung gestaltet sich auf Grund fehlender Vergleichswerte in der Literatur schwierig. Die wenigen bisher publizierten Haaranalysen befassen sich lediglich mit dem Element Quecksilber und dabei entweder mit der Gesamtgehaltsbestimmung [Cox et al. 1989, Valentino et al. 1995, Egeland und Middaugh 1997] oder mit dessen Speziierung [Akagi et al. 1995, Sarmani et al. 1997, Greim 1998] nach Quecksilberintoxikationen. Ein Vergleich der nachgewiesenen Konzentrationen mit den Angaben in der Literatur ist nicht möglich, da es sich bei den in

der vorliegenden Arbeit analysierten Kopfhaaren um Proben unbelasteter Probanden handelt.

Akagi et al. [1995] beobachteten, dass etwa 60 bis 80 % des nachgewiesenen Quecksilbers in methylierter Form vorliegt, Sarmani et al. [1997] bestimmten einen methylierten Anteil von etwa 60 %.

Diese Angaben stimmen gut mit den hier ermittelten prozentualen Anteilen des methylierten Quecksilbers für Proband I von 56 % und für Proband II von 70 % überein.

Die Normalwerte für den Quecksilbergehalt in Haarproben werden von Jiang [2000] mit < 2 mg Hg/kg angegeben, wobei die Konzentrationen der hier nachgewiesenen Hydridbildner und des elementaren Quecksilbers deutlich unter diesem Wert liegen.

Durch den Vergleich der von den Probanden benutzten unterschiedlichen Haarpflegemittel konnten keine Rückschlüsse auf die nachgewiesenen Spezies oder die differierenden Zinngehalte in den Haarproben gezogen werden.

Eine weitestgehend meeresfrüchte- und fischarme Ernährung des Probanden I im Vergleich zu einem durchschnittlichen Konsum dieser Nahrungsmittel bei Proband II könnte den höheren Anteil an methyliertem Quecksilber und die 7-fach höheren Butylzinneinkonzentrationen im Haar von Proband II erklären.

Der Nachweis des anorganischen Bismuts kann mit dem Einsatz von Bismut in Kosmetik- oder Reinigungsprodukten zusammenhängen. Die Herstellerangaben zu den von den Probanden benutzten Hautpflegemitteln bzw. Kosmetika enthalten allerdings keine Hinweise auf das Vorliegen von Bismutverbindungen.

## 6 Blut

Blut ist ein flüssiges Körpergewebe und besteht aus den festen Bestandteilen Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten, welche in einem wässrigen Medium, dem Plasma, suspendiert sind. Die Abbildung 2 (S.16) stellt schematisch die Zusammensetzung des Blutes dar.

Blutplasma ist die Bezeichnung für die Blutflüssigkeit in Abwesenheit von Blutzellen. Es besteht überwiegend aus Wasser, in dem Eiweißkörper, sonstige Nähr- und Transportstoffe, Stoffwechselprodukte, Hormone und Vitamine gelöst sind. Eine wichtige Funktion der Plasmaeiweiße ergibt sich aus ihrer Fähigkeit, verschiedene Stoffe zu binden. Auf diese Weise können wasserunlösliche Substanzen im Blut transportiert werden. Andere Substanzen entgehen in dieser Bindung dem Abbau im Blut oder der Ausscheidung durch die Niere. Gebunden und transportiert werden Fette, Zucker, Metalle, Vitamine, Produkte des körpereigenen Stoffwechsels und Arzneimittel. Der jeweilige Anteil dieser Eiweißstoffe im Blutplasma ist unterschiedlich. Albumin, ein Transportprotein, macht mehr als die Hälfte des Gesamteiweißgehaltes des Plasmas aus. Eine weitere Proteingruppe ist die der Immunglobuline (ca. 15 % des Gesamtproteins), die zur Abwehr von Krankheitserregern beitragen.

Unter den anorganischen Bestandteilen des Plasmas haben die Salze eine wesentliche Bedeutung. Sie bestimmen die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Blutes. Neben Natriumchlorid, welches etwa 75 % des Salzgehaltes ausmacht, sind Kalium-, Calcium- und Magnesiumsalze in kleineren Mengen vorhanden. Als Bicarbonate und Phosphate halten diese Salze durch Pufferwirkung den leicht alkalischen pH-Wert von 7,4 aufrecht.

Die Plasmagewinnung sollte, um eine Verfälschung der Gehalte durch Zellzerfall zu vermeiden, unmittelbar nach der Blutabnahme geschehen. Bei einer zu langen Bereitstellungsphase der Vollblutproben kommt es zu einem merklichen Abfall der Glukosekonzentration, während die Konzentrationen von Phosphor, Kreatinin und saurer Phosphatase ansteigen.

Die Gewinnung des Blutplasmas erfolgt durch Zentrifugieren des Vollblutes, welches mit Hilfe eines Antikoagulanzen wie EDTA, Fluorid oder Citrat ungerinnbar gemacht wurde. Auf Grund des unterschiedlichen spezifischen Gewichtes setzen sich die korpuskulären

Elemente am Boden ab, während das Blutplasma, eine schwach gelbe Flüssigkeit, nach oben steigt.

Die Gesamtheit der zellulären Anteile des Blutes, die durch die Zentrifugation abgetrennt werden nennt man Hämatokrit. Zur Blutgerinnung kommt es, wenn das im Plasma enthaltene Fibrinogen in Fibrin umgewandelt wird. Blutplasma ohne Fibrinogen wird als Serum bezeichnet. Durch Zentrifugation des geronnenen Vollblutes lässt sich das Serum als Überstand des sedimentierten Blutkuchens gewinnen. Die Gerinnung läuft verzögert ab oder das Serum geliert, wenn das Blut nach der Entnahme gekühlt wird. Gekühlt gelagertes Vollblut führt zu dessen Hämolyse und damit insbesondere zum Ansteigen der Kaliumkonzentration.

Frisch gewonnene Plasma- und Serumproben sind bei Raumtemperatur für etwa sechs, bei 4 °C bis zu 48 Stunden stabil [Sutton und Heitkemper 2000]. Eine Langzeitlagerung sollte bei -18 °C bis -20 °C erfolgen [Begerow et al. 1997].

Sabe et al. [2000b] untersuchten die Stabilität von im Blutplasma enthaltenen metall- und metalloorganischen Verbindungen bei unterschiedlichen Temperaturen und Lagerungszeiten. Eine Lagerung der Plasmaproben bei 4 °C gewährte eine Stabilität der Spezies von zwei Tagen, Lagerungstemperaturen von -20 °C bieten stabile Bedingungen für ein Jahr.

Liang et al. [2000] untersuchten die Stabilität von Methylquecksilber in Blutproben und fanden bei einer Lagerungstemperatur von -20 °C innerhalb eines Jahres keine Veränderung der Methylquecksilberkonzentration.

Bei der im Zuge der experimentellen Studien durchgeführten Hydrierung des Blutes betrug das Probenvolumen zunächst 4 mL, welches mit 4 mL *Seralpur* suspendiert wurde. Mit Hilfe von 3 %-iger Salzsäure wurde die Probenlösung anschließend auf einen pH-Wert von 1 eingestellt. Letztlich erfolgte die Zugabe von 1 mL NaBH<sub>4</sub> über ein Septum in die geschlossene Hydrierapparatur.

## **6.1 Methodische Studie**

In der vorliegenden Arbeit sollten hinsichtlich der sehr komplexen Matrix Blut Voruntersuchungen zur Hydrierbarkeit von Vollblut, Plasma und Serum durchgeführt werden.

Auf Grund des hohen Anteils an Proteinen im Blut und der Neigung zur Schaumbildung bei der Durchleitung eines Gases erfolgte das Hydrieren unter schwierigen und nicht routinemäßig anwendbaren Bedingungen, die im Folgenden erläutert werden sollen.

### **6.1.1 Verhalten metall- und metalloorganischer Verbindungen beim Purgen bzw. Hydrieren**

Sabe et al. [2000b] untersuchten den Einfluss des Materials zweier gebräuchlicher Blutentnahmeröhrchen auf die Blutproben und konnten für die Blutentnahmeröhrchen LH-Metall-Analytik S-Monovette der Firma Sarstedt und Na-Heparin Vacutainer-Hemogard der Firma Becton Dickinson keine Beeinflussung der Analysenergebnisse feststellen.

Für die im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführten Blutentnahmen zur Vollblutanalyse wurden die LH-Metall-Analytik S-Monovetten ohne Additive ausgewählt.

Probenmengen von 4 mL Vollblut eines unbelasteten Probanden wurden eine Stunde nach der Probennahme in der Hydrierapparatur vorgelegt und für 10 Minuten Helium durch die Probenlösung geleitet. Es trat eine starke Schaumentwicklung ein, die ein Durchleiten des Heliums bei der für die Hydrierung normalerweise verwendeten Fließgeschwindigkeit von 250 mL/min verhinderte. Die Reduzierung des Heliumflusses wurde je nach Schaumentwicklung so vorgenommen, dass es zu keinem Übertritt des Schaums in das Trockenrohr kommen konnte. Bei der anschließenden Analyse des Adsorptionsröhrchens wurden keine metall- oder metalloorganischen Verbindungen nachgewiesen.

Dies bestätigt eine komplexe Bindung dieser Verbindungen an den im Blut vorhandenen Proteinen oder anderen Matrixbestandteilen.

Die folgende Hydrierung derselben Probe mit 1 mL  $\text{NaBH}_4$  wurde auf Grund der Belastung durch starke Schaumentwicklung unter Minimierung des Trägergasstromes durchgeführt.

Diese Hydrierbedingungen machen ein Überleiten der aus den Matrixbestandteilen durch die Reaktion mit dem  $\text{NaBH}_4$  freigesetzten und in ihre flüchtigen Hydride überführten metall(oid)organischen Verbindungen nahezu unmöglich.

In den hydrierten Blutproben konnten lediglich Monomethylzinn und Monobutylzinn in Konzentrationen von 4 bzw. 76 ng Sn/L nachgewiesen werden.

Die starke Schaumbildung des Blutes bei der Durchleitung des Heliums führte zu einer Reduzierung der Fließgeschwindigkeit des Trägergases, einer langsameren Zutropfgeschwindigkeit des Reduktionsmittels und zu einem Übertritt des Schaums in das Trockenrohr und teilweise in das Adsorptionsröhrchen.

Bedingt durch diese Schwierigkeiten bei der Hydrierung, die deren Durchführung unter Standardbedingungen nicht ermöglichten, wurden als Lösungsansätze sowohl die Gewinnung von Serum oder Plasma durch Abtrennung der korpuskulären Bestandteile des Blutes und die Verwendung eines Entschäumerpräparates, als auch die Reduzierung der eingesetzten Probenmenge durchgeführt. Eine geringere Probeneinwaage birgt allerdings für die im Ultraspurenbereich vorliegenden Verbindungen die Gefahr, unter die Nachweisgrenze zu gelangen.

### 6.1.2 Verwendung eines Entschäumerpräparates bei der Hydrierung von Blutproben

Schäume stellen ein Zweiphasensystem dar, bei dem gasgefüllte Blasen in einer Flüssigkeit oder einem Feststoff dispergiert sind. Flüssige Schäume entstehen durch das Einarbeiten von Gasen in Flüssigkeiten, welche zur Schaumbildung befähigte Substanzen enthalten.

Durch das Vorliegen der Eiweißstoffe in dem flüssigen Dispersionsmittel Blut erfolgt beim Einleiten der gasförmigen dispersen Phase Helium eine kolloide Zerteilung der Blutprobe, die Schaumbildung.

Der Einsatz von Entschäumerpräparaten hat sowohl schaumverhindernde als auch – abbauende Wirkung. Auf Grund ihres inerten chemischen Aufbaus sollten keine Reaktionen mit der vorliegenden Probe eintreten. Die enthaltenen speziellen hydrophoben Entschäumersubstanzen besitzen eine hohe Viskosität und wirken durch ihre geringe Oberflächenspannung auf Flüssigkeiten und Schaumlamellen.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Präparat *Antifoam* 289 der Firma Sigma Aldrich verwendet. Es besteht zu 99 % aus einem Gemisch von silikonhaltigen (Polydimethylsiloxan) und silikonfreien (Polypropylen) Entschäumerwirkstoffen und zu einem Prozent aus Silikonglycol und ist u. a. in wässrigen Systemen bei Raumtemperatur anwendbar.

Durch die Zugabe eines Tropfens zu der Probenlösung vor der Durchleitung des Trägergases wurde die Schaumentwicklung verhindert.

Die Ergebnisse der sich an die Hydrierung des Antischäumerpräparates anschließenden Analyse hinsichtlich des Vorliegens von metall- und metalloideorganischen Verbindungen sind in Tabelle A12 des Anhangs aufgeführt.

Einerseits zeigt der Nachweis dieser Verbindungen in dem Entschäumer, dass die hier vorgestellte Methode es ermöglicht, selbst aus hydrophoben Matrices Metalle, Metalloide und ihre Verbindungen zu lösen und nachzuweisen.

Andererseits jedoch sind die detektierten Blindwerte des Entschäumers an metall(oid)organischer Verbindungen sehr hoch. Die Gehalte in einem Tropfen *Antifoam* betragen für anorganisches Antimon und Zinn 1 bzw. 1,3 ng, die Konzentrationen der methylierten Verbindungen liegen zwischen 30 und 900 ng Element/L Entschäumer.

Auf Grund der zuvor erwähnten Problematik erfolgte die Hydrierung von Serumproben dennoch unter Zugabe eines Tropfens *Antifoam*. Die bei dieser experimentellen Arbeit



nachgewiesenen Konzentrationen an metall- und metalloorganischen Verbindungen zeigt Tabelle 26.

Spezies	AsH <sub>3</sub>	MeAsH <sub>2</sub>	Me <sub>2</sub> AsH	SnH <sub>4</sub>
1 mL Serum ohne Antifoam [ng/L]	241	1	< 0,03	441
2 mL Serum ohne Antifoam [ng/L]	31	1	1	125
2 ml Serum mit Antifoam [ng/L]	63	2	3	1.051
Spezies	BuSnH <sub>3</sub>	Hg <sup>0</sup>	MeHgH	BiH <sub>3</sub>
1 mL Serum ohne Antifoam [ng/L]	< 0,03	< 0,02	1	< 0,02
2 mL Serum ohne Antifoam [ng/L]	< 0,03	< 0,02	0,3	< 0,02
2 ml Serum mit Antifoam [ng/L]	28	21	8	5

**Tabelle 26** Metall- und metalloorganische Verbindungen im Blutserum eines unbelasteten Probanden

Die Hydrierung des Blutserums mit einem Probenvolumen von 1 bzw. 2 mL wurde durch zum Teil sehr starke Schaumentwicklung und die daraus resultierende Reduzierung bzw. Aussetzung des Heliumflusses belastet. Obschon bei einem Probenvolumen von 1 mL eine geringere Schaumbildung beobachtet werden konnte, führte dies nicht zu einer praktikablen Derivatisierung der Blutbestandteile.

Die höheren nachgewiesenen Konzentrationen in der 1 mL Serumsprobe gegenüber der Einwaage von 2 mL spiegeln die günstigeren Hydrierkonditionen wider, wobei jedoch die Konzentration des Me<sub>2</sub>AsH bei dem geringeren Probeneinsatz unterhalb der Nachweisgrenze lag.

Die Hydrierung des Serums unter Zusatz des Antischäumers verlief ohne Komplikationen, bei den in Tabelle 26 angegebenen Konzentrationen erfolgte bereits die Subtraktion der jeweiligen Blindwerte des *Antifoams*. Hierbei konnten für alle Spezies mit Ausnahme des anorganischen Arsens höhere Konzentrationen als in den Serumproben ohne Additiv nachgewiesen werden.

Die Normalwerte für Blutsera werden von Bauzen [2002] für Antimon mit  $< 1,7 \mu\text{g/L}$ , für Arsen mit  $< 10 \mu\text{g/L}$ , für Zinn mit  $< 2 \mu\text{g/L}$  und für Quecksilber mit  $< 5 \mu\text{g/L}$  angegeben. Die BAT-Werte für anorganisches und organisches Quecksilber liegen bei  $< 100 \mu\text{g Hg/L}$  bzw.  $< 50 \mu\text{g Hg/L}$ .

Damit befinden sich alle nachgewiesenen Konzentrationen im Bereich der Normalwerte. Für die Bewertung der nachgewiesenen Konzentrationen sollte jedoch berücksichtigt werden, dass die Gewinnung des Blutserums unter Abtrennung der korpuskulären Elemente des Blutes stattfindet.

Da sich beispielsweise 90 % des gesamten im Blut vorliegenden Quecksilbers in den Erythrozyten befindet [Mutter 2000], ist von erheblichen Ausbeuteeinbußen bei der Analyse des Blutserums im Vergleich zur Vollblutanalyse auszugehen.

Wahrscheinlich wird weder durch die fehlerbelastete Hydrierung ohne Entschäumer, die mit reduziertem oder ohne Heliumfluss durchgeführt wurde, noch durch den Einsatz des Antischäumers bei der Hydrierung, bedingt durch dessen hohe Blindwerte, eine quantitative Ausbeute erzielt.

Es besteht die Möglichkeit, dass die Schaumblasen die durch die Hydrierung entstehenden flüchtigen metall- und metalloorganischen Verbindungen aus der Probenlösung mitreißen und einschließen.

Da die Schaumblasen ein wässriges System darstellen, werden bevorzugt die wasserlöslichen Komponenten eingeschlossen. Dies sind vor allem die Hydride des Arsens, Antimons, Selens und Tellurs [Dedina und Tsalev 1995], während beispielsweise Germaniumhydrid, Methyl- und Dimethylarsen wasserunlöslich sind [Craig 1986].

Die Freisetzung aus den Schaumblasen stellt einen reinen diffusionsgesteuerten Prozess dar, der kinetisch gehemmt abläuft, sodass dieser innerhalb der Überleitungszeit aus dem Reaktionskolben in das Adsorptionsröhrchen von 10 Minuten nicht abgeschlossen sein wird.

Neben den schlechten Hydrierbedingungen führt auch der Einschluss der Analyte in den Blasen zu einer Minderung des quantitativen Nachweises.

Andererseits muss durch die Verwendung des hydrophoben Entschäumerpräparates ein Vorliegen der hydrophoben metall- und metalloorganischen Verbindungen in dieser wasserunlöslichen Phase diskutiert werden. Die Analyte würden dort adsorbiert vorliegen, wodurch ihre Überführung in das Adsorptionsröhrchen gestört wäre.

Ferner wird durch die zusätzliche Belastung der Probenlösung mit der in den Entschäumerpräparaten enthaltenen Metall(oid)organik das Risiko der Trans- und Ummethylierungsreaktionen (*Abschnitt 2.2.2.2*) erhöht, sodass eine qualitative Aussage über die vorliegenden Verbindungen nicht mehr möglich ist.

Eine andere Möglichkeit zur Realisierung einer quantitativen Hydrierung des Blutes ist die Anwendung thermischer oder mechanischer Schaumzerstörungsmethoden, wobei erstere auf Grund der thermischen Instabilität vieler metall(oid)organischer Verbindungen [Feldmann 1995] ausgeschlossen werden können.

Die Zerstörung des Schaums durch Anwendung mechanischer Prozesse hingegen scheint ein geeignetes Mittel, um die Hydrierung des Blutes unter Standardbedingungen durchführen zu können. Hier könnte sowohl eine feinporiges teflonisiertes Sieb über der Flüssigkeitsoberfläche, welches zur Verhinderung der Bildung großer Blasen dient, die die Analyten einschließen können, als auch ein Rührer zur Zerstörung der im Gasraum befindlichen Schaumblasen angewendet werden.

### 6.1.3 Unterschiedliche Probennahmeröhrchen in der Blutanalyse

Im Hinblick auf die in der Medizin routinemäßig durchgeführten Blutanalysen erfolgt je nach Bestimmungsparameter der Einsatz unterschiedlicher Blutentnahmeröhrchen zur Vollblutanalyse, Plasma- oder Serumgewinnung, wobei sich Plasma- und Serumproben bezüglich der Konzentrationen ihrer Bestandteile nicht unterscheiden.

In den meisten Fällen werden Kaliummethyldiamintetraacetat und Trinatriumcitrat zur Komplexierung des Calciums, welches die jeweiligen klinischen Analysen stört, verwendet.

Im Zuge der Voruntersuchungen zur Blutanalyse wurde die Hydrierfähigkeit der durch Benutzung verschiedener Blutentnahmeröhrchen gewonnenen Blutproben überprüft. Hierzu zeigt Tabelle 27 eine Zusammenstellung der verwendeten Blutentnahmeröhrchen und einige ihrer Anwendungsgebiete.

Monovettenbezeichnung	Parameter zur Analyse
EDTA-Blut rote Monovette	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Blutbild</li> <li>• Differentialblutbild</li> <li>• CO-Hämoglobin</li> </ul>
Fluorid-Blut (Plasma) gelbe Monovette	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glukose</li> <li>• Lactat</li> </ul>
Citrat-Blut (Plasma) grüne Monovette	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fibrinogen</li> <li>• Plasminogen</li> <li>• Protein C</li> <li>• Protein S</li> </ul>
Serum weiße Monovette	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Enzyme</li> <li>• Elektrolyte</li> <li>• Spurenelemente</li> <li>• Hormone</li> <li>• Medikamente</li> <li>• Vitamine</li> </ul>

Tabelle 27 Anwendungsgebiete der unterschiedlichen Blutentnahmeröhrchen

Bei EDTA-, Fluorid- und Citrat-Blut handelt es sich um Vollblut, dessen Gerinnung durch die Zugabe dieser Antikoagulanzen unterdrückt wurde.

Je nach Art des verwendeten Antigerinnungszusatzes variiert die chemische Zusammensetzung des resultierenden Plasmas. Beispielsweise enthält Plasma, welches durch die Zugabe von 15 %-igem Trinatriumcitrat gewonnen wurde 9,9 % Trockensubstanz, 8 % Gesamtprotein, 0,24 % Lipide und 1,4 % Mineralstoffe [Radovanovic et al. 1993].

Die in Tabelle 27 aufgeführten vier Blutentnahmeröhrchen wurden zur Gewinnung der Blutproben eines unbelasteten Probanden verwendet. Die Hydrierung von 1 mL der Blutproben erfolgte eine Stunde nach der Probennahme, wobei der Trägergasfluss entsprechend der Schaumbildungseffizienz reguliert wurde. Die in den Proben nachgewiesenen metall- und metalloorganischen Verbindungen sind in Tabelle A13 des Anhangs aufgeführt.

Die Blutproben in den unterschiedlichen Blutentnahmeröhrchen variieren hinsichtlich der Konzentrationen der nachgewiesenen Verbindungen stark.

Die Konzentrationen der Spezies liegen in den Serumproben durchschnittlich höher als in den Plasmaproben des Fluorid- und Citratblutes.

Die höchsten detektierten Konzentrationen weist das EDTA-Blut auf. Anorganisches Zinn und Monobutylzinn konnten mit 4 µg bzw. 9,3 µg Sn/L Blut detektiert werden. Ebenfalls wurden anorganisches und monomethyliertes Germanium, anorganisches, mono- und dimethyliertes Arsen, anorganisches Bismut und Zinn in Form von Mono-, Di-, Tri- und Tetramethylzinn gefunden.

Bei der Beurteilung dieser Ergebnisse sind jedoch die schlechten Hydrierbedingungen zu berücksichtigen, die zu unterschiedlichen Analytverlusten je nach Schaumentwicklung der Proben führten.

Im Folgenden soll die Rolle der den Vollblutproben zugesetzten Antigerinnungsmittel zur Komplexierung von Metallionen diskutiert werden.

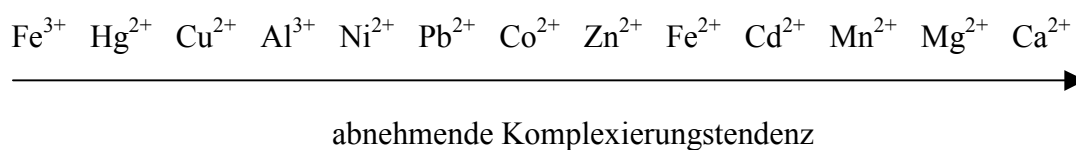
Komplexe werden durch die Wechselwirkung eines Zentralatoms mit einem Liganden gebildet, dabei wird zwischen ein- und mehrzähligen Liganden unterschieden.

Die Komplexstabilität ist abhängig von den Gleichgewichtskonstanten der einzelnen Schritte der Komplexbildung. Mit zunehmender Komplexierung schwindet die Koordinationsfähigkeit des Zentralatoms, was zur Abnahme der Komplexbildungskonstanten führt. Zur Beurteilung der Bildungswahrscheinlichkeit eines gesamten Komplexes werden die einzelnen Komplexbildungskonstanten zu einer Bruttokomplexbildungskonstanten zusammengefasst. Stabile Komplexe ergeben sich mit Liganden, die mehrere Koordinationsstellen zur Verfügung haben.

EDTA als Chelatbildner (*Abbildung 5, S. 57*) bindet zwei- und dreiwertige Metalle und bildet mit ihnen eine stabile Ringstruktur. Die Stabilitätskonstanten einiger EDTA-Komplexe sind in Tabelle A14 des Anhangs aufgelistet.

Auf Grund seiner Wasserlöslichkeit komplexiert EDTA nur Metallionen, die in der wässrigen Phase gelöst vorliegen.

Beim pH-Wert des Blutes von 7,4 nimmt die Stärke, mit der EDTA gelöste Metalle bindet, in folgender Reihenfolge ab:



Folglich werden alle genannten im Vollblut vorliegenden Metallionen vor den Calciumionen von EDTA komplexiert. Durch diese Komplexierung gelangen die Metallionen bei der Abtrennung des Plasmas in die wässrige Plasmaphase und können bei der Hydridgenerierung mittels  $\text{NaBH}_4$  durch Zerstörung des EDTA-Komplexes aus der Probe ausgetrieben werden. Dies würde die höheren Konzentrationen der metall- und metalloorganischen Verbindungen im EDTA-Blut erklären.

Jedoch sollten dann die nachgewiesenen Konzentrationen des Citrat- und Fluoridplasmas ebenfalls höher sein als die in der Serumprobe.

Bei der klinischen Blutuntersuchung auf das Vorliegen von Schwermetallen werden diese in der Regel im Blutserum bestimmt. Der Nachteil dieser Methode liegt darin, dass die Elemente in den Blutzellen, den roten und weißen Blutkörperchen, nicht erfasst werden.

Die Blutserumanalyse weist erst dann Konzentrationen der im Blut vorhandenen Metalle und Metalloide auf, wenn diese Elemente auf Grund von Mangelversorgung des Organismus im Depot der Blutzellen fehlen.

Daher sollte der Elementspiegel im Vollblut unter Erfassung der extra- und intrazellulären Gesamtkonzentrationen bestimmt werden. Dies gilt auch für die Analyse metall- und metalloïdorganischer Verbindungen. Dabei sollte auf eines der diskutierten mechanischen Verfahren zur Verringerung der Schaumbildung zurückgegriffen werden.

Während Ebdon et al. [1999] als einzige Arsenkomponente im Blutplasma Arsenobetain nachweisen konnten, wobei die Konzentrationen von MMA und DMA unterhalb der Nachweisgrenze der HPLC/ICP-MS-Kopplung von 1,5 µg As/L Blut lagen, konnte hier im Blutplasma und -serum anorganisches Arsen, MMA und DMA nachgewiesen werden. Die Konzentrationen des anorganischen Arsens lagen zwischen 2 und 47 ng As/ L Probe, die für MMA und DMA betrugen jeweils 1 bis 2 ng As/ L Probe. Wie bereits erwähnt, weist eine HPLC/ICP-MS-Kopplung im Vergleich zu der hier verwendeten um den Faktor 1000 höhere Nachweisgrenzen auf, weshalb der Nachweis von in Spuren vorliegenden Spezies mit jener Methode nicht möglich ist.

Brunetto et al. [1999] zeigten in Vollblutproben von 60 Probanden prozentuale Anteile von 60 bis 67 % Monomethylquecksilber und 33 bis 40 % anorganischem Quecksilber.

Die in Tabelle 26 aufgeführten Ergebnisse der Analyse von 2 mL Serum zeigen einen Nachweis des Monomethylquecksilbers, während das anorganische Quecksilber nicht detektiert wurde. Andererseits wurde bei der Untersuchung der einzelnen Blutentnahmeröhrchen keine Spezies des Quecksilbers nachgewiesen.

#### **6.1.4 Addition von metall- und metalloorganischen Verbindungen**

Zur Bewertung des Verhaltens der Matrix Blut bei der Addition von metall- und metalloorganischen Verbindungen erfolgte die Zugabe von  $\text{Et}_3\text{SnCl}$ ,  $\text{Me}_3\text{SbCl}_2$  und TMAO zu Blutserumproben. Für die Hydrierung der Proben wurde ein Probenvolumen von 1 mL zur Minimierung der Schaumentwicklung gewählt.

Jedoch waren alle hier durchgeführten Analysen zusätzlich durch den Fehler der nicht unter Standardbedingungen durchführbaren Hydrierung belastet.

Die in den Serumproben nachgewiesenen Konzentrationen der metall- und metalloorganischen Verbindungen sind in Tabelle A15 des Anhangs aufgeführt.

Während bei der Analyse des Serums ohne Aufstockung die Konzentrationen von DMA und TMA unterhalb der Nachweisgrenzen lagen, wurde nach Addition von 50 ng As/L Serum als TMAO beide Spezies mit 0,4 bzw. 0,5 ng As/L gefunden. Die Zugabe größerer Mengen TMAO resultierte in geringeren Konzentrationen für DMA und TMA.

Was das MMA und das anorganische Arsen betrifft, so wurde kein Einfluss der addierten Menge TMAO auf deren Konzentration festgestellt.

Einerseits kann die eingesetzte Menge von 1 mL  $\text{NaBH}_4$  nicht ausreichen, um eine quantitative Reduktion des TMAO zu erreichen. Andererseits werden bei einer größeren Einwaage des Additivs die nachgewiesenen Konzentrationen sogar geringer. Die vorliegende Matrix scheint einen Großteil des TMAO zu komplexieren, sodass seine Reduktion nicht möglich ist, dieser Effekt verstärkt sich mit zunehmender Konzentration des Additivs.

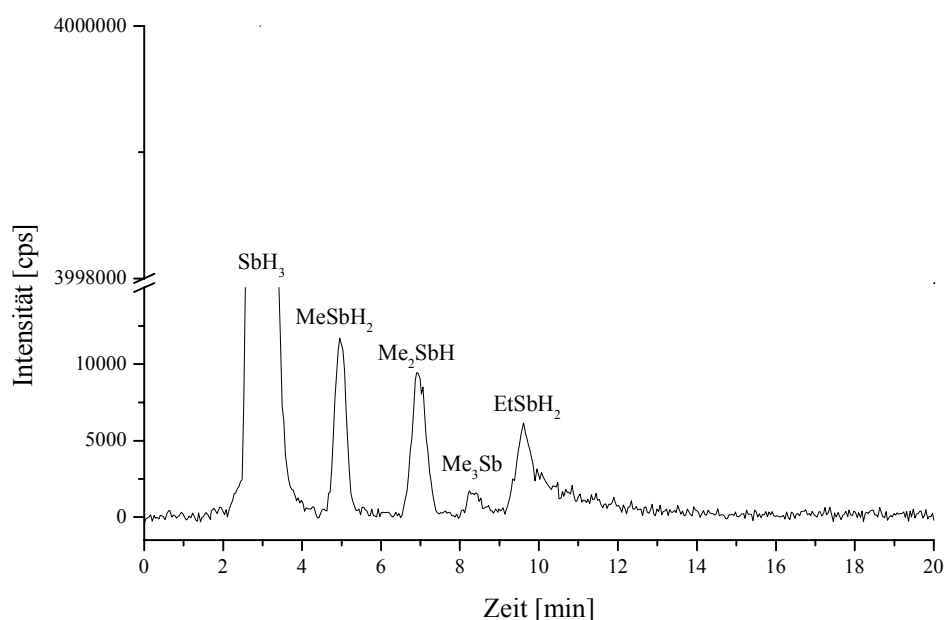
Weiterhin wurde analog den Beobachtungen von Hitzke [2000] neben der Reduktion des TMAO zu TMA eine Demethylierung des TMA zu DMA gezeigt, wobei MMA nicht in höheren Konzentrationen als in der Ursprungsprobe nachgewiesen wurde.

Diesbezüglich hatte die Aufstockung der Serumproben mit Triethylzinnchlorid auf die anderen nachweisbaren Zinnspezies keine Auswirkungen. Während in der mit 100 ng Sn/L als  $\text{Et}_3\text{SnCl}$  aufgestockten Probe 52 % der ethylierten Zinnverbindungen wiedergefunden wurde, sank die Wiederfindungsrate mit steigender Aufstockungskonzentration des  $\text{Et}_3\text{SnCl}$ .



Die Zugabe des  $\text{Me}_3\text{SbCl}_2$  resultierte in Analogie zu den Beobachtungen von Dodd et al. [1992] und Craig et al. [1999] (Abschnitt 2.2.2.2) sowohl in einem Anstieg der Konzentration des  $\text{Me}_3\text{Sb}$  als auch in einer Konzentrationszunahme bei den di- und monomethylierten Antimonspezies. Hierbei wurde im Gegensatz zu den Angaben in der Literatur keine Erhöhung der Konzentration des anorganischen Antimons beobachtet.

Ein Chromatogramm des Antimons einer mit  $\text{Me}_3\text{SbCl}_2$  versetzten Serumprobe ist in Abbildung 41 dargestellt.



**Abbildung 41** Antimonspezies in einer mit  $\text{Me}_3\text{SbCl}_2$  versetzten Blutprobe

Das Chromatogramm zeigt das Auftreten einer weiteren bisher nicht nachgewiesenen Antimonspezies, dem Monoethylantimon. Da diese Verbindung in der vorliegenden Arbeit in keiner anderen klinischen Probe detektiert wurde, liegt die Vermutung nahe, dass es sich hier um ein Artefakt handelt, welches durch Umlagerung einer Ethylgruppe des anwesenden  $\text{Et}_3\text{SnCl}$  in der Probenlösung entstanden ist.

Der Mechanismus dieser Umlagerungen muss allerdings in weiterführenden Studien aufgeklärt werden.

## **7    Übergreifende Studien**

### **7.1   Entfernung von Amalgamfüllungen bei gleichzeitiger Kontrolle der metall(oid)organischen Ausscheidungen über Urin und Stuhl**

Im Rahmen dieser Studie erfolgte die parallele Kontrolle der Ausscheidungsprodukte Urin und Stuhl eines Probanden nach Entfernung seiner Amalgamfüllungen. Die Anzahl der Füllungen betrug vier, dabei wurde die Wertigkeit mit sieben eingestuft. Zur Ausleitung des bei der Entfernung des Amalgams freigesetzten und eventuell inkorporierten Quecksilbers wurde am Tag der Entfernung mit der Einnahme von 4 g der *Alge Chlorella pyrenoidosa* für eine Zeitspanne von vier Tagen begonnen. Die Probennahme der Urin- und Stuhlproben erfolgte am Morgen vor der Entfernung der Amalgamfüllungen und an den vier folgenden Tagen.

Neben dem Element Quecksilber, auf welchem in dieser Studie ein besonderes Augenmerk lag, sollte durch die gleichzeitige Kontrolle der beiden Hauptausscheidungsprodukte das jeweilige Verteilungsschema der einzelnen Elemente beobachtet werden.

Die Analyseergebnisse bezüglich des Vorliegens von metall- und metalloïdorganischen Verbindungen in den Urin- und Stuhlproben sind in Tabelle A16 des Anhangs für die Elemente Antimon, Arsen, Bismut, Selen und Zinn zusammengestellt.

Die nachgewiesenen Spezies des Quecksilbers werden in der folgenden Tabelle 28 präsentiert.

	Hg <sup>0</sup> [ng/L]	MeHgH [ng/L]	Me <sub>2</sub> Hg [ng/L]	Hg <sup>0</sup> [ng/kg]	MeHgH [ng/kg]	Me <sub>2</sub> Hg [ng/kg]
	Urin	Urin	Urin	Stuhl	Stuhl	Stuhl
vorher	< 0,03	< 0,03	< 0,03	51	< 0,07	< 0,07
1. Tag	65	8	2	< 0,07	9.381	24.977
2. Tag	16	14	1	< 0,07	43.736	18.099
3. Tag	17	< 0,03	< 0,03	< 0,07	13.189	1.818
4. Tag	34	< 0,03	< 0,03	< 0,07	16.430	2.901

**Tabelle 28** Nachgewiesene Quecksilberspezies in Urin- und Stuhlproben eines Probanden nach Entfernung von vier Amalgamfüllungen

Die Menge Quecksilber, die in vier Amalgamfüllungen enthalten ist, liegt zwischen 1 und 1,3 g, wobei die Menge des Quecksilbers, welches bei der Entfernung der Füllungen in den Organismus gelangt, nicht generell abschätzbar ist. In der Urinprobe des ersten Tages nach Entfernung der Füllungen wurde durchschnittlich 65 ng/L anorganisches Quecksilber nachgewiesen, dies entspricht bei einer Urinmenge von ca. 200 mL Morgenurin etwa 13 ng.

Viel bedeutender ist jedoch der Nachweis der methylierten Quecksilberspezies nach der Entfernung der Amalgamfüllungen. An den ersten beiden Tagen wurden insgesamt 34,4 bzw. 61,8 µg/kg methylierte Quecksilberkomponenten in den Stuhlproben nachgewiesen, was einem Gehalt von 8,6 bzw. 15,5 ng pro Stuhlprobe entspricht.

Da es sich bei dem in dem Amalgamgemenge enthaltenen Quecksilber um anorganisches Quecksilber handelt und ab einer Woche vor der Durchführung dieser Studie auf den Verzehr quecksilberhaltiger Nahrungsmittel verzichtet wurde, weist der Nachweis der methylierten Spezies im Ausscheidungsprodukt des Organismus eindeutig auf eine Methylierung im menschlichen Körper hin. So wurde neben der monomethylierten Spezies auch das Dimethylquecksilber detektiert. Die bereits in *Abschnitt 5.2.2* bei der Analyse der Speichelproben nach einer Amalgamentfernung diskutierte Methylierung in der Mundflora des Menschen kann hier nun um die Methylierung in der Darmflora

erweitert werden. Die Methylierung anorganischen Quecksilbers in der Flora des menschlichen Darms konnte bisher nur In-vitro [Yannai und Berdicevsky 1991 und Ludwicki 1998] gezeigt werden, hier gelang erstmalig der In-vivo-Nachweis.

Im Folgenden sollen nun die unterschiedlichen Eliminierungspfade der einzelnen Elemente aus dem Organismus betrachtet werden.

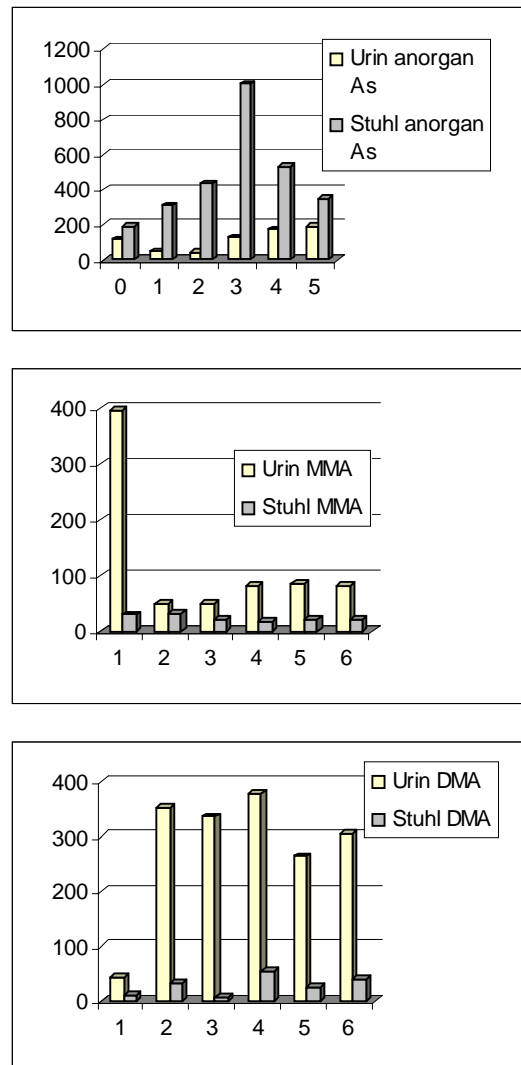
Literaturangaben zufolge [Begerow 1994, Agaki 1995, Zalups 2000] erfolgt die Ausscheidung des anorganischen Quecksilbers größtenteils über den Urin, wohingegen das Methylquecksilber zu 90 % über den Darm und zu 10 % über die Niere eliminiert wird.

Dies wird durch die gefundene Verteilung der Quecksilberspezies in Urin und Faces bestätigt, wobei die Ausscheidung der methylierten Spezies hier fast vollständig über den Stuhl erfolgt.

Während vor der Entfernung der Amalgamfüllungen lediglich im Stuhl anorganisches Quecksilber mit einer Konzentration von 51 ng Hg/kg nachgewiesen wurde und die Urinproben kein detektierbares Quecksilber aufwiesen, wurde bereits am ersten Tag nach der Entfernung des Amalgams das Vorliegen der beiden methylierten Spezies Mono- und Dimethylquecksilber in den Stuhl- und das des anorganischen Quecksilbers in den Urinproben gezeigt. Lediglich an den beiden Tagen der Ausscheidung der höchsten Konzentrationen wurden im Urin ebenfalls geringe Mengen (0,05 %) methylierter Spezies nachgewiesen.

Bei der Betrachtung des anorganischen Quecksilbers empfiehlt sich demzufolge die Urinanalyse als Methode der Wahl, wohingegen die Kontrolle der methylierten Spezies via Ausscheidung im Stuhl erfolgen sollte.

Die Speziesverteilung des Elementes Arsen auf die beiden Ausscheidungsprodukte Urin und Stuhl ist in Abbildung 42 dargestellt.



**Abbildung 42** Verteilung der Spezies des Elementes Arsen auf die beiden Ausscheidungsprodukte Urin und Stuhl

Die in der einschlägigen Literatur anerkannte Aussage, dass die Hauptausscheidung des Arsens über die Niere stattfindet, wird anhand der in Abbildung 42 gezeigten Gegenüberstellung der Ausscheidungen über Urin und Stuhl für das Mono- und das Dimethylarsen als Hauptarsenkomponenten im Urin bestätigt.

Durch die Speziierung der Arsenverbindungen wurde jedoch die Eliminierung des anorganischen Arsens zu einem Anteil von 62 bis 91 % über den Stuhl gezeigt. Hierbei ist auffällig, dass bei höheren Konzentrationen des anorganischen Arsens die Beteiligung der Ausscheidung über die Faces zunimmt, während bei geringeren Konzentrationen in den Urinproben zwischen 35 und 38 % des gesamten anorganischen Arsens nachweisbar ist.

Bei der Ausscheidung der beiden methylierten Spezies aus dem Organismus liegt mit dem Nachweis von durchschnittlich 77,4 % MMA und durchschnittlich 89,7 % DMA in den Urinproben das Übergewicht eindeutig auf Seiten der Eliminierung über den Harn.

Die häufig publizierte und in dieser Arbeit ebenfalls nachgewiesene Verteilung der drei Arsenspezies im Urin mit einem Anteil des anorganischen Arsens von bis zu 30 %, des MMA von 10 bis 20 % und des DMA von 60 bis 80 % stimmen mit den hier gefundenen mittleren Anteilen des anorganischen Arsens von 22 %, des MMA von 13 % und des DMA von 65 % ebenfalls überein.

Die Speziesverteilung in den Stuhlproben gestaltet sich mit durchschnittlich 88,3 % anorganischen Arsens, 6,1 % MMA und 5,6 % DMA vollständig unterschiedlich, stimmt aber mit der in *Abschnitt 4.2* im Stuhl nachgewiesenen überein.

Da TMA nur in  $\frac{1}{3}$  der analysierten Proben detektiert wurde, reichen diese Angaben für die Erstellung eines Verteilungsschemas der Ausscheidung nicht aus.

In der vorliegenden Arbeit wurde hiermit erstmalig ein Vergleich der Verteilungen der drei Arsenkomponenten anorganisches Arsen, Monomethyl- und Dimethylarsen in Urin- und Stuhlproben durchgeführt. Weiterhin wurde ein konstantes Verteilungsmuster für diese Spezies im Stuhl beobachtet und beschrieben.

Für das Element Zinn wurden in den Stuhlproben in Analogie zu den nach der Amalgamentfernung analysierten Speichelproben (*Abschnitt 5.2.2*) sehr hohe Konzentrationen nachgewiesen. Das anorganische Zinn, welches in der Referenzstuhlprobe mit 14,3 µg Sn/kg vorlag, wurde drei Tage nach der Entfernung der Füllungen mit 87,8 µg Sn/kg nachgewiesen. Ebenso stieg die Konzentration des Butylzinns von 1,5 in der Referenzprobe auf 11,2 µg Sn/kg in der Stuhlprobe des zweiten Tages an, während für die methylierten Zinnkomponenten keine signifikanten Konzentrationsänderungen beobachtet wurde.

Die bereits in *Abschnitt 5.2.2* der vorliegenden Arbeit diskutierte These, dass die Ursache für den Nachweis dieser hohen Zinnkonzentrationen das Entweichen des Zinns aus den Amalgamfüllungen ist, kann durch die hier gefundenen Konzentrationen gefestigt werden. Auch die hohen nachgewiesenen Konzentrationen des Butylzinns müssten im Zusammenhang mit der Entfernung der Amalgamfüllungen stehen, da ein Einbringen des Butylzinns durch die Einnahme der Alge *Chlorella pyrenoidosa* in diesen Konzentrationen gemäß den in Tabelle A10 des Anhangs aufgeführten Butylzinnkonzentrationen von maximal 3,2 µg Sn/kg in den Stuhlproben nach der Algeneinnahme ausgeschlossen werden kann.

Die Konzentrationserhöhung bei den Zinnspezies nach der Entfernung der Amalgamfüllungen wurde jedoch nicht für die über den Urin nachgewiesenen Zinnkomponenten, die viel geringere Konzentrationen aufweisen, beobachtet. Dies lässt auf den intestinalen Hauptausscheidungspfad des Zinns schließen.

Zur Untermauerung dieser Annahme ist die prozentuale Verteilung der fünf Zinnspezies anorganisches Zinn, Mono-, Di- und Trimethylzinn sowie Monobutylzinn auf die beiden hier betrachteten Ausscheidungsprodukte Urin und Stuhl in Tabelle 29 dargestellt.

	SnH <sub>4</sub>	SnH <sub>4</sub>	MMT	MMT	DMT	DMT	TMT	TMT	MBT	MBT
	Urin [%]	Stuhl [%]	Urin [%]	Stuhl [%]	Urin [%]	Stuhl [%]	Urin [%]	Stuhl [%]	Urin [%]	Stuhl [%]
vorher	10,4	89,6	1,2	98,8	21,9	78,1	96,9	< 3,1	14,5	85,5
1. Tag	6	94	3,8	96,2	18,1	81,9	98,7	< 1,3	1,4	98,6
2. Tag	4,9	95,1	2,1	97,9	13,8	86,2	15	85	0,6	99,4
3. Tag	2,5	97,5	1,3	98,7	10	90	3,8	96,2	2,1	97,9
4. Tag	3,4	96,6	1,3	98,7	10,1	89,9	5,4	94,6	1,1	98,9
5. Tag	2,2	97,8	1,3	98,7	11	89	97,5	< 2,5	4,4	95,6

**Tabelle 29** Prozentuale Verteilung der nachgewiesenen Zinnkomponenten auf die menschlichen Ausscheidungsprodukte Urin und Stuhl

Wie die Angaben in obiger Tabelle bestätigen, findet die Eliminierung aller hier nachgewiesenen Zinnspezies aus dem menschlichen Organismus zu über 90 % über den Darm statt. Eine Unterscheidung der anorganisch und der organisch vorliegenden Komponenten, wie im Falle des Arsens oder Quecksilbers, bezüglich ihres Ausscheidungsweges wurde beim Element Zinn nicht beobachtet.

Lediglich das Trimethylzinn wurde in drei Stuhlproben nicht nachgewiesen, während es in den korrespondierenden Urinproben vorlag.

Eine geringe Absorption der anorganischen Zinnverbindungen und die zum Großteil ohne Metabolisierung direkte Ausscheidung über den Stuhl kann anhand der vorliegenden Ergebnisse bestätigt werden. Der geringe Prozentsatz des anorganischen Zinns im Urin von durchschnittlich 4,9 % entspricht dem im Körper resorbierten Anteil, welcher den Organismus über den Harn verlässt.



Im Gegensatz dazu zeigen organische Zinnverbindungen eine hohe Fettlöslichkeit und Stabilität in biologischen Flüssigkeiten, wodurch ihre Anreicherung im Organismus ermöglicht wird; das Verlassen des Körpers geschieht dabei ebenfalls über den Stuhl.

Die Kontrolle der Ausscheidung aller hier nachgewiesenen Zinnspezies sollte somit über das Ausscheidungsprodukt Faces erfolgen.

Die beiden Selenspezies Dimethylschwefelselen und Dimethyldiselen werden gemäß der vorliegenden Studie ausnahmslos über den Urin ausgeschieden, ein Nachweis dieser Komponenten in den Stuhlproben war nicht möglich. Dies entspricht der in *Abschnitt 1.4.7* beschriebenen Metabolisierung des Selen im Organismus. Die mit der Nahrung aufgenommenen Selenverbindungen werden im Körper entweder in Selenproteine eingebaut oder zu Selenwasserstoff reduziert und anschließend schrittweise methyliert, wobei die Ausscheidung dieser Methylderivate über den Harn oder die Expiration geschieht.

Lediglich für das anorganisch vorliegende Antimon kann eine Aussage über dessen bevorzugte Eliminierung aus dem Organismus getroffen werden. Die Spezies Mono-, Di- und Trimethylantimon lagen in den analysierten Urin- und Stuhlproben nicht in ausreichend hohen Konzentrationen, die Rückschlüsse zulassen würden, vor. Das anorganische Antimon wurde lediglich in drei Urinproben nachgewiesen, jedoch wiesen zwei der Proben recht hohe Konzentrationen von durchschnittlich 5,4 und 10,5 µg Sb/L auf. Demgegenüber lagen die Konzentrationen des anorganischen Antimons in den entsprechenden Stuhlproben unterhalb der Nachweisgrenze von 0,07 ng Sb/kg. Dies weist auf eine überwiegende Ausscheidung des anorganischen Antimons über den Harn hin, was jedoch im Gegensatz zu der dem Arsen ähnlichen, allgemein diskutierten, Verhaltensweise im Organismus steht.

Für die mit der verwendeten Nachweismethode detektierbaren Bismutkomponenten anorganisches Bismut, Mono-, Di- und Trimethylbismut kann, begründet durch den seltenen Nachweis dieser Komponenten in den Urin- und Stuhlproben, bezüglich ihres Ausscheidungsverhaltens aus dem menschlichen Organismus keine Aussage getroffen werden.

## **7.2      *Vergleich der Atem-, Speichel- und Urinproben von drei Probanden vor und nach Verzehr einer metall- und metalloiddhaltigen Mahlzeit***

Bei dieser Studie stand die Kontrolle der metall- und metalloiddhaltigen Bestandteile der Expiration, des Speichels und des Urins nach Verzehr einer mit Arsen, Bismut, Quecksilber und Selen angereicherten Mahlzeit im Vordergrund. Drei Tage vor Beginn des Versuches wurde auf metall- und metalloiddhaltige Nahrungsmittel verzichtet. Atem-, Speichel- und Urinproben wurden vor der Einnahme der angereicherten Kost, Atem- und Speichelpuben drei Stunden nach deren Verzehr und Urinproben je nach Harndrang genommen. Insgesamt sammelte jeder der drei Probanden innerhalb von zwölf Stunden vier Urinproben.

Nachfolgend sind die je Versuchsperson inkorporierten Nahrungsmittel und deren Metall(oid)gehalte aufgeführt:

- 2 Dosen Thunfisch (300 g) → 10 µg Quecksilber als Monomethylquecksilber
- 5 Tabletten Chlorella pyrenoidosa → 1 µg organisch gebundenes Arsen
- 5 Tabletten Selemun → 228 µg Selen als Selenit
- 2 Tabletten Telen → 215 mg Bismut als Citratkomplex

**Atem**

Die in der Atemluft nachgewiesenen Verbindungen vor und nach Verzehr der angereicherten Mahlzeit zeigt Tabelle 30.

	Proband I vorher [ng/m <sup>3</sup> ]	Proband I nachher [ng/m <sup>3</sup> ]	Proband II vorher [ng/m <sup>3</sup> ]	Proband II nachher [ng/m <sup>3</sup> ]	Proband III vorher [ng/m <sup>3</sup> ]	Proband III nachher [ng/m <sup>3</sup> ]
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Se	2	2	5	1	1	1
(CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> Sn	0,3	< 0,02	< 0,02	< 0,05	< 0,05	< 0,05
(CH <sub>3</sub> )I	14	12	10	14	4	4
Hg <sup>0</sup>	3	1	< 0,01	< 0,01	< 0,01	1
(CH <sub>3</sub> )(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )Hg	3	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	1
BiH <sub>3</sub>	< 0,01	1	< 0,01	1	< 0,01	< 0,01
(CH <sub>3</sub> )BiH <sub>2</sub>	0,2	3	1	0,3	(0,02)	0,3
(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> Bi	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,1	< 0,01	< 0,01

**Tabelle 30** Nachgewiesene Verbindungen in Atemproben von drei Probanden vor und nach Verzehr einer metall- und metalloidgehaltigen Mahlzeit

In den Atemproben aller Probanden wurde erneut Dimethylselen nachgewiesen. Die Konzentrationen liegen jedoch deutlich unter den in *Abschnitt 5.1* bestimmten.

Die in der vorliegenden Studie dem Organismus oral zugeführte Menge Selen betrug 228 µg als Selenit, der tägliche Selenbedarf liegt zwischen 10 und 100 µg.

Bei oraler Applikation wird Selen überwiegend im Dünndarm resorbiert. Anorganische Selenite werden dabei in der Dünndarmschleimhaut passiv resorbiert und zu Selenwasserstoff reduziert. Dieser wird dann über die Bildung von Selenphosphat und einem Selenocystein komplex selektiv in Selenproteine eingebaut oder nach seiner Methylierung mit dem Urin als Monomethylselen oder dem Atem als Dimethylselen ausgeschieden.

Allerdings liegt keine Korrelation zwischen der hier zugeführten Selenmenge und der durch die Atemprobe vor und nach der Aufnahme ausgeschiedenen Menge vor. Die aufgenommene Selenmenge war vermutlich zu gering, um einen Konzentrationsanstieg des Dimethylselens in der Expirationsluft nachzuweisen.

Die Aufnahme von 10 µg Monomethylquecksilber durch den Verzehr des Thunfisches zeigte weder eine Auswirkung auf die Konzentration des anorganischen Quecksilbers noch auf die der organisch vorliegenden Quecksilberspezies in der Atemluft.

Bei oraler Aufnahme von Methylquecksilber(II) bildet sich mit der Salzsäure des Magens das lipophile Methylquecksilberchlorid, welches durch Resorption ins Blut gelangt. Dort sind Methylquecksilberverbindungen zu 90 % an die Erythrozyten gebunden.

Die Ausscheidung des Quecksilbers findet zu 90 % über den Darm und zu 10 % über die Niere statt.

Obwohl die aufgenommene Menge des methylierten Quecksilbers im Vergleich zu einer 300g Portion Salzwasserfisch, welche zwischen 1,6 und 54 ng Hg als Monomethylquecksilber enthält [Sweet und Zelikoff 2001], verhältnismäßig groß war, wird hier die bevorzugte Ausscheidung des oral aufgenommenen Quecksilbers über Urin und Stuhl durch die nicht bestimmbaren Konzentrationen in der Atemluft bestätigt.

Erstmalig wurde Ethylmethylquecksilber in zwei von sechs Atemproben nachgewiesen. Auf Grund ihrer Größe können Ethylquecksilberverbindungen die Blut-Hirn-Barriere nicht durchdringen und werden im Organismus schnell abgebaut. Deshalb wird deren Nachweis in der Expiration nur kurze Zeit nach der Aufnahme in den Körper gelingen.

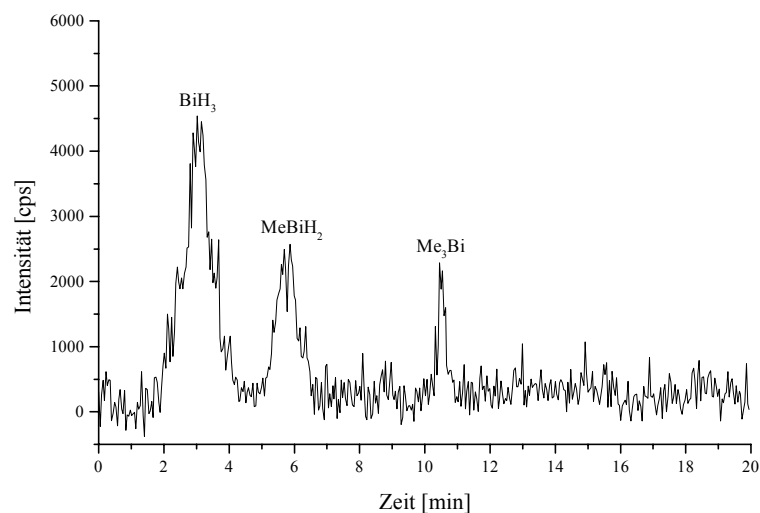
Ein Nachweis der Verbindungen des Elementes Arsen in der Atemluft war nicht möglich. Die Konzentration des Methyljods liegt mit durchschnittlich 9,5 ng Iod/m<sup>3</sup> im gleichen Bereich wie die der Atemproben aus *Kapitel 5.1*.

Damit üben die aufgenommenen Mengen der Verbindungen der Elemente Arsen, Quecksilber und Selen keinen Einfluss auf die Konzentrationen dieser Elemente oder ihrer korrespondierenden metall- und metalloïdorganischen Verbindungen in der Atemluft aus.

Für das Element Bismut besteht eine Korrelation zwischen der Konzentration des Bismuts in den Atemproben und seiner Aufnahme in den Organismus. Der Atem des Probanden I enthielt vor dem Verzehr der Mahlzeit lediglich  $0,2 \text{ ng Bi/m}^3$  als  $\text{MeBiH}_2$ , während drei Stunden nach Verzehr der Bismuttabletten die Konzentration des  $\text{MeBiH}_2$  um den Faktor 14 anstieg und anorganisches Bismut mit einer Konzentration von  $1 \text{ ng Bi/m}^3$  vorlag.

Bei Proband III wurde ein 15-facher Anstieg der  $\text{MeBiH}_2$  Konzentration nach der Nahrungsaufnahme festgestellt.

Die nachgewiesenen Bismutspezies des Probanden II in der Atemprobe nach Aufnahme der bismuthaltigen Nahrung sind in Abbildung 43 als Chromatogramm des Bismuts dargestellt.



**Abbildung 43** Nachgewiesene Bismutspezies in einer Atemprobe nach Aufnahme von bismuthaltiger Nahrung

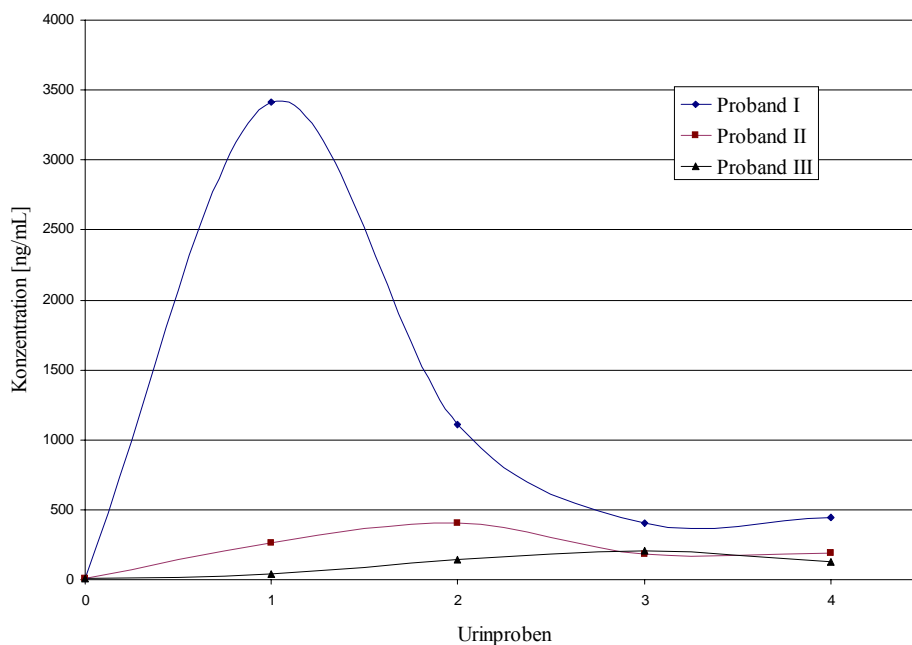
Bei der oralen Aufnahme von Bismutsalzen entstehen durch die Magensäure unlösliche Salzkomplexe, die von dem Gastrointestinaltrakt kaum resorbiert und über den Darm ausgeschieden werden.

Allerdings enthielt der Atem des Probanden III nach dem Verzehr der Bismuttabletten neben anorganischem Bismut und  $\text{MeBiH}_2$  ebenfalls  $\text{Me}_3\text{Bi}$ . Dies könnte ein erster Hinweis auf eine Methylierung des Bismuts im menschlichen Organismus sein.

Das im Citratkomplex gebundene Bismut würde nach der Methylierung im Körper über den Darm ins Blut gelangen und von dort über die Lunge in die Ausatemungsluft.

## Urin

In Analogie zu den Ergebnissen der Atemproben wurde für das Bismut in den Urinproben über eine Gesamtgehaltsbestimmung mittels Lösungsanalytik des ICP-MS in Zusammenarbeit mit Herrn Hippler eine signifikante Konzentrationserhöhung nach der Nahrungsaufnahme für alle drei Probanden gezeigt. Den Verlauf der Bismutkonzentration in den fünf Urinproben, wobei Urinprobe 0 dem Referenzurin vor Verzehr der präparierten Mahlzeit entspricht, zeigt Abbildung 44.



**Abbildung 44** Konzentrationsverlauf des Bismuts im Urin vor und nach Verzehr einer bismutreichen Mahlzeit bei drei Probanden

Bei Proband I resultiert eine Gauß-Verteilung aus der Auftragung der Bismutkonzentrationen der einzelnen Urine. Sie erreicht mit der ersten Urinprobe nach Verzehr der Bismuttabletten ein Maximum, während die höchste Konzentration bei Proband II in der zweiten und bei Proband III in der dritten Urinprobe gefunden wurde.

Durch Berechnung der Konzentrationen der einzelnen Urinproben und Addition der Werte ergibt sich bei einer Aufnahme von 215 mg Bismut pro Proband die Gesamtbismutkonzentration für Proband I zu 1,1 mg, für Proband II zu 314 µg und für Proband III zu 147 µg innerhalb von maximal 12,5 Stunden nach dem Verzehr der mit Bismut

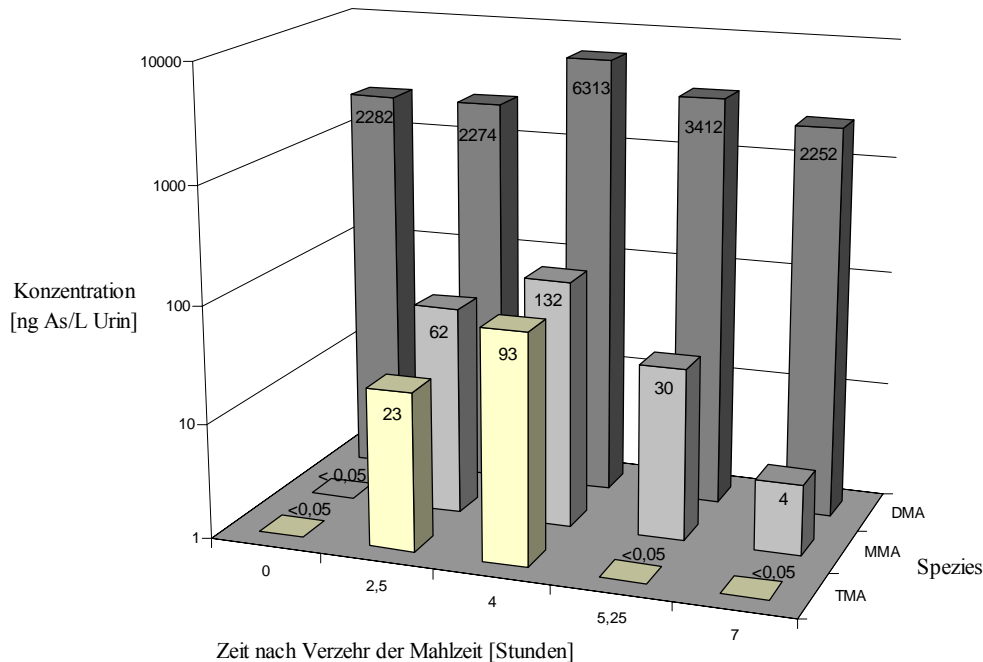
angereicherten Mahlzeit. Damit wurde maximal 0,5 % des inkorporierten Bismuts über die Ausscheidung via Urin nachgewiesen. Dies unterstützt die These von der intestinalen Ausscheidung als Hauptausscheidung nach der orale Aufnahme von Bismutsalzen.

Die Konzentrationen der Gesamtgehaltsbestimmung für die Elemente Antimon, Arsen, Bismut, Quecksilber und Selen in den Urinproben sind in Tabelle A17 des Anhangs aufgeführt. Während für Quecksilber und Selen kein Zusammenhang mit dem Verzehr der angereicherten Nahrung beobachtet wurde, zeigen die Arsenkonzentrationen einen Anstieg auf das 4- bis 18fache. Die hier ermittelten Konzentrationen liegen signifikant über der dem Organismus zugeführten Menge von 1 µg Arsen. Dies kann mit dem Verzehr des Thunfisches begründet werden, welcher Arsenkonzentrationen im mg/kg-Bereich enthält, die bei der Berechnung des zugeführten Arsens nicht berücksichtigt wurden. Die Ausscheidung des Arsens aus dem Organismus geschieht größtenteils über den Urin innerhalb von ein bis drei Tagen. Für die ersten 12,5 Stunden wurde nach dem Verzehr der angereicherten Mahlzeit eine Gesamtarsenausscheidung für Proband I von 298, für Proband II von 436 und für Proband III von 306 µg/L nachgewiesen.

Werden nun die Ergebnisse der Speziierung der Urinproben betrachtet, die in Tabelle A18 des Anhangs aufgeführt sind, zeigt sich sowohl für das Arsen als auch für die Elemente Quecksilber und Bismut ein signifikanter Konzentrationsanstieg, während Spezies des Selen nicht nachgewiesen wurden.

Der Anteil des hydrierbaren Arsens in den Urinproben liegt zwischen 1 und 4 %. In keiner der Urinproben wurde anorganisches Arsen nachgewiesen. Der Urin des Probanden I enthielt in der Blindprobe als einzige Arsenspezies DMA mit einer Konzentration von 2282 ng As/L. Etwa drei Stunden nach Verzehr des Thunfisches wies die entsprechende Urinprobe neben DMA mit einer Konzentration von 6313 ng As/L auch die Spezies MMA und TMA mit Konzentrationen von 132 bzw. 93 ng As/L auf.

Den Konzentrationsverlauf der Arsenspezies des Probanden I zeigt Abbildung 45 in einer logarithmischen Auftragung.



**Abbildung 45** Konzentrationsverlauf der Arsenspezies MMA, DMA und TMA im Urin eines Probanden nach Verzehr einer arsenhaltigen Mahlzeit

Nach sieben Stunden entsprechen die Konzentrationen der Arsenspezies im Urin des Probanden I in etwa denen der Referenzprobe.

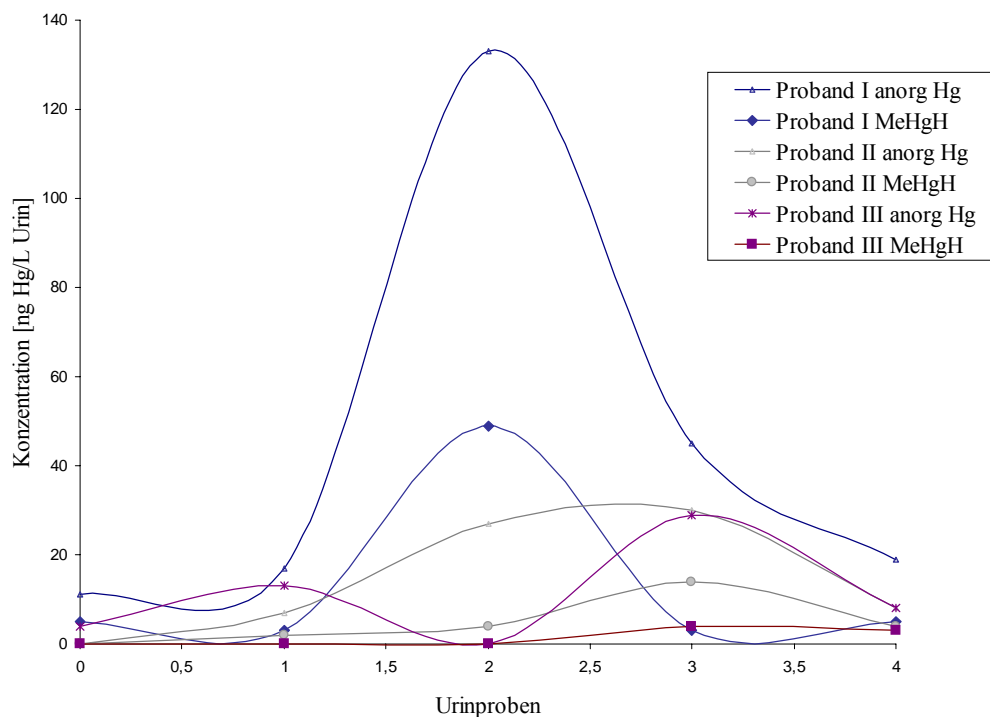
Die nachgewiesenen Konzentrationen des Arsens in den Urinproben der Probanden II und III zeigen kein analoges Verlaufsschema. Jedoch wurden alle drei Spezies detektiert, wobei DMA die Hauptkomponente darstellt.

Eine signifikante Erhöhung der DMA-Konzentration nach dem Verzehr der Fischmahlzeit, wie die von Sur et al. [1999] beobachtete Verdoppelung der DMA-Werte oder der von Goessler et al. [1997] nachgewiesene Konzentrationsanstieg des DMA um das zwei- bis fünffache, wurde lediglich für Proband I festgestellt.

Hakaka und Puy [1995] sahen keinen Einfluss des Verzehrs einer Fischmahlzeit auf die Konzentration von MMA im Humanurin, dies entspricht den für Proband II und III beobachteten Gehalten, im Gegensatz zu dem für Proband I gezeigten Anstieg der MMA-Konzentration nach Verzehr der Mahlzeit.



Sowohl die Konzentration des anorganischen Quecksilbers als auch die des Monomethylquecksilbers steigt nach Verzehr des Thunfisches an. Abbildung 46 stellt die Konzentrationen der beiden Spezies in den Urinproben graphisch dar.



**Abbildung 46** Konzentrationsverlauf des anorganischen Quecksilbers und des Monomethylquecksilbers in den Urinproben von drei Probanden nach Verzehr einer quecksilberreichen Kost

Während die beiden Konzentrationsverläufe des Probanden I einer Gaußverteilung folgen, zeigen die Konzentrationsverläufe für die Probanden II und III keine analogen Maxima für die Ausscheidung der beiden Spezies.

Jedoch gelang in dieser im Gegensatz zu der in *Abschnitt 3.4.2* beschriebenen Studie der Nachweis des methylierten Quecksilbers nach dem Verzehr von Fisch. Dies lässt sich durch den unterschiedlichen Monomethylquecksilbergehalt in den verzehrten Fischmahlzeiten erklären. Im Vergleich zur verzehrten Seelachsfiletmahlzeit, die 692 ng methyliertes Quecksilber aufwies (*Tabelle 17, S. 124*), enthielt die hier aufgenommene

Thunfischportion mit 10 µg die 10fache Menge Monomethylquecksilber. Der innerhalb der kontrollierten Zeit von 12,5 Stunden nachgewiesene Gehalt des Monomethylquecksilbers in der Urinmenge von etwa einem Liter pro Proband beträgt mit 59 ng Hg für Proband I, 24 ng Hg für Proband II und 7 ng Hg für Proband III jedoch lediglich zwischen 0,01 und 0,6 % des inkorporierten methylierten Quecksilbers.

Die Frage nach dem Verbleib des dem Organismus zugeführten Monomethylquecksilbers kann bei einem überwiegend intestinalen Ausscheidungsweg des Quecksilbers erst durch die Analyse des Stuhls beantwortet werden.

Wie bereits bei der Diskussion der Ergebnisse der Atemproben beschrieben, entstehen bei der oralen Aufnahme von Bismutsalzen durch die Magensäure unlösliche Salzkomplexe, die von dem Gastrointestinaltrakt kaum resorbiert und über den Darm ausgeschieden werden. Die in den Atemproben nachgewiesenen methylierten Bismutspezies lassen eine Methylierung des anorganischen Bismuts im Organismus vermuten, dies wurde anhand der Speziierung der Urinproben jedoch nicht eindeutig verifiziert. Für das in den Referenzurinproben nicht nachweisbare anorganische Bismut wurden Konzentrationen von bis zu 51 µg Bi/L Urin in den Urinen nach Einnahme von 215 µg Bismutcitrat detektiert. Die über 12,5 Stunden über den Harn ausgeschiedene Menge anorganischen Bismuts betrug für Proband I beispielsweise 80 µg Bi/L.

Der Nachweis methylierter Bismutspezies gelang lediglich in den Urinproben des Probanden II. Hier wies die Urinprobe mit der ebenfalls maximalen anorganischen Konzentration von 5 µg Bi/L Mono- und Dimethylbismut mit Konzentrationen von 12 bzw. 21 ng Bi/L auf, wohingegen Trimethylbismut nicht nachgewiesen wurde. Dies ist ein weiterer Hinweis auf die Methylierung des Bismuts im Organismus, jedoch ist für die Verifizierung bei der intestinalen Ausscheidung als Hauptausscheidung des Bismuts die Analyse dieses Ausscheidungsproduktes unabdingbar.

### **Speichel**

Es erfolgte die Analyse von Speichelproben vor und drei Stunden nach Verzehr der angereicherten Mahlzeit auf das Vorliegen von metall- und metalloorganischen Verbindungen. Die Ergebnisse führt Tabelle A19 des Anhangs auf. Beide Speichelproben des Probanden I wiesen keine metall(oid)organischen Komponenten auf. Die Mundflüssigkeiten der Probanden II und III enthielten nach Verzehr der Mahlzeit anorganisches Bismut in Konzentrationen von 108 bzw. 15 µg Bi/L. Methylierte Bismutspezies wurden nicht nachgewiesen.

Durch die Analyse der Speichelproben wurde der in *Abschnitt 5.2.2* erfolgte Nachweis des anorganischen Quecksilbers in Speichelproben von Amalgamträgern reproduziert.

In Analogie zu dem dort im Speichel des Amalgamträgers nachgewiesenen anorganischen Quecksilber weist der Speichel des Probanden III, welcher Amalgamfüllungen besitzt, anorganisches Quecksilber in Konzentrationen von 3,4 µg Hg/L auf, wohingegen die Konzentrationen des Quecksilbers in den Proben der anderen beiden Versuchspersonen unterhalb der Nachweisgrenze lagen.

Hier konnte eine ca. 100fach höhere Menge anorganisches Quecksilber detektiert werden als in den Speichelproben der in *Abschnitt 5.2.2* beschriebenen Studie. Dies ist insofern zu diskutieren, als das das Procedere des Kaugummikauens vor der Gewinnung der Speichelprobe, welches hier im Gegensatz zu der Studie in *Abschnitt 5.2.2* nicht durchgeführt wurde, die Konzentration des anorganischen Quecksilbers signifikant erhöht [Mayer et al.1994, Krauß et al.1998].

Jedoch liegt die nachgewiesene Konzentration des anorganischen Quecksilbers des Probanden III in guter Übereinstimmung mit den in der Literatur vorhandenen Angaben über die Konzentrationen im Ruhespeichel von Amalgamträgern.

## 8 Referenzmaterialien

Methylierte Spezies enthaltende biologische Referenzmaterialien sind rar. Obwohl in den letzten Jahren die Entwicklung dieser Referenzmaterialien von vielen Forschergruppen gefordert wurde [Cornelis et al. 2001, Emons 2001, Hammerschmidt und Fitzgerald 2001], sind diesbezüglich die einzigen Referenzmaterialien für Dimethylarsen zertifiziertes Fischgewebe, für Mono-, Di- und Tributylzinn zertifiziertes Muschelgewebe und unterschiedliche Fisch- und Muschelproben, welche für Methylquecksilber zertifiziert sind. Folglich können die in dieser Arbeit nachgewiesenen Konzentrationen der metall- und metalloorganischen Verbindungen in Humanproben nicht durch vergleichende Konzentrationsbestimmung mit entsprechenden Referenzmaterialien eingeordnet werden. Dennoch erfolgten die Analysen der oben genannten existierenden Referenzmaterialien wie im Folgenden beschrieben, wobei die nachgewiesenen Konzentrationen der entsprechenden Spezies mit der hier verwendete *Screening*-Methode in derselben Größenordnung wie die zertifizierten Gehalte liegen sollten.

### 8.1 Analyse des Muschelgewebes CRM 477

Morabito et al. [1999] beschreiben die Zertifizierungsmethode des MBT, DBT und TBT enthaltenden getrockneten Muschelgewebes, das in der vorliegenden Arbeit analysiert wurde. Seine Lagerung erfolgte in einer braunen Glasflasche, die vor der Entnahme der Probe zu deren Re-Homogenisierung fünf Minuten geschüttelt wurde. Der Anforderung eines minimalen Probeneinsatzes von 500 mg konnte auf Grund der Überschreitung der Hydridbildungseffizienz durch einen so hohen Probeneinsatz mit entsprechend umfangreicher Probenmatrix nicht entsprochen werden.

Begründet durch die Schwierigkeiten der quantitativen Bestimmung von höher siedenden schwer flüchtigen Verbindungen mit Retentionszeiten über 10 Minuten, bei denen sowohl das Ausleiten aus dem Reaktionskolben und das Durchfließen des Trockenrohres als auch das Passieren der gaschromatographischen Säule auf Grund sterischer Hinderung erschwert ist, wurde hier nur die Quantifizierung des Monobutylzinns durchgeführt.

Der zertifizierte Gehalt der Trockenmasse des MBT von  $1,01 \pm 0,19$  mg Sn/kg wurde als Mittelwert aus den gefundenen Konzentrationen von acht Laboratorien mit unterschiedlichen Nachweismethoden bestimmt [Quevauviller et al. 1997].

Die mit der in der vorliegenden Arbeit angewandten IIK-Methode zur Quantifizierung der Spezies nachgewiesene Konzentration für das MBT beträgt  $0,33 \pm 0,1$  mg Sn/kg. Dies entspricht unter Berücksichtigung der Fehlergrenzen einem detektierten Anteil von maximal 52,4 %. Damit befindet sich die hier ermittelte in der Größenordnung der zertifizierten Konzentration.

Hierbei muss sowohl die sehr geringe Einwaage von 0,0014 g als auch die eingesetzte Menge des Hydrierungsmittels berücksichtigt werden. Die in dem Referenzmaterial enthaltenen Konzentrationen im mg/kg-Bereich sind für die Speziierung im Spuren- oder Ultraspurenbereich sehr hoch. Bei diesen Konzentrationen kann 1 mL  $\text{NaBH}_4$  nicht ausreichen, um eine quantitative Hydrierung der vorhandenen Spezies zu erreichen [Guo et al. 1997].

Die Konzentrationen der weiteren im Muschelgewebe vorliegenden Spezies anorganisches und monomethyliertes Antimon, anorganisches, mono- und dimethyliertes Arsen, anorganisches Bismut und Quecksilber sowie anorganisches, mono- und dimethyliertes und monobutyliertes Zinn sind in Tabelle A20 des Anhangs aufgeführt. Abbildung A2 des Anhangs zeigt das Chromatogramm für Zinn.

Während das MBT und das DBT gemäß der in Tabelle 4 angegebenen Retentionszeiten die gaschromatographische Säule verlassen, wird für das TBT eine geringere Retentionszeit von 15,4 min gegenüber 18,2 min registriert. Dies kann auf die sehr hohen Konzentrationen in der Probe zurückgeführt werden. Die resultierende hohe Beladung der chromatographischen Säule könnte zu einer früheren Desorption der Spezies und damit zu niedrigeren Retentionszeiten führen.

Die Ermittlung des MBT-Gehaltes soll nun zusätzlich über die Standardadditionsmethode nach DIN 32633 [1998] durchgeführt werden. Dazu wurde das Muschelgewebe über eine Vierfachbestimmung mit je 0,03; 0,27; 0,41 und 1,1 µg BuSnCl<sub>3</sub>/g CRM versetzt hydriert. Die Auftragung der ermittelten Peakflächen des MBT gegen die zugegebene Einwaage des Referenzmaterials ist in der Abbildung A3 des Anhangs dargestellt. Die Matrix des Muschelgewebes scheint das Hydrierungsmittel zu inaktivieren, da die aufgestockten BuSnCl<sub>3</sub>-Mengen nicht in einer Vergrößerung der Peakfläche resultieren. Die Anwendung der Standardaddition zur Ermittlung der vorliegenden Konzentration im Referenzmaterial CRM 447 ist somit nicht möglich.

Die über die IIK-Methode ermittelten Konzentrationen für die gegebenen Aufstockungen sind in Tabelle 31 aufgeführt.

BuSnCl <sub>3</sub> addiert	0 [µg/g]	0,03 [µg/g]	0,28 [µg/g]	0,41 [µg/g]	1,1 [µg/g]
BuSnH <sub>3</sub> gefunden [µg/g]	0,33	0,34	0,4	0,4	0,4
WFR [%]		33	25	17	6

Tabelle 31 Addition von BuSnCl<sub>3</sub> zu dem Referenzmaterial CRM 477

## 8.2 Analyse des Thunfischgewebes CRM 464 und CRM 627

Quevauviller et al. [1994] sowie Maier et al. [1997] und Lagarde et al. [1999] beschreiben die Zertifizierungsmethoden des Methylquecksilbers für das Thunfischreferenzmaterial CRM 464 sowie des Dimethylarsens für das Thunfischreferenzgewebe CRM 627.

Der geforderten Mindesteinwaage von 0,2 g für CRM 464 und 0,3 g für CRM 627 konnte aus den in *Abschnitt 8.1* erläuterten Gründen nicht entsprochen werden.

Die zertifizierte Konzentration der Trockenmasse des Methylquecksilbers beträgt  $5,12 \pm 0,16 \mu\text{g Hg/g}$  und wurde als Mittelwert aus den gefundenen Konzentrationen von zwölf Laboratorien mit unterschiedlichen Nachweismethoden berechnet.

Die, mittels IIK-Methode, berechnete Konzentration für das Methylquecksilber beträgt  $1,63 \pm 0,49 \mu\text{g Hg/g}$ .

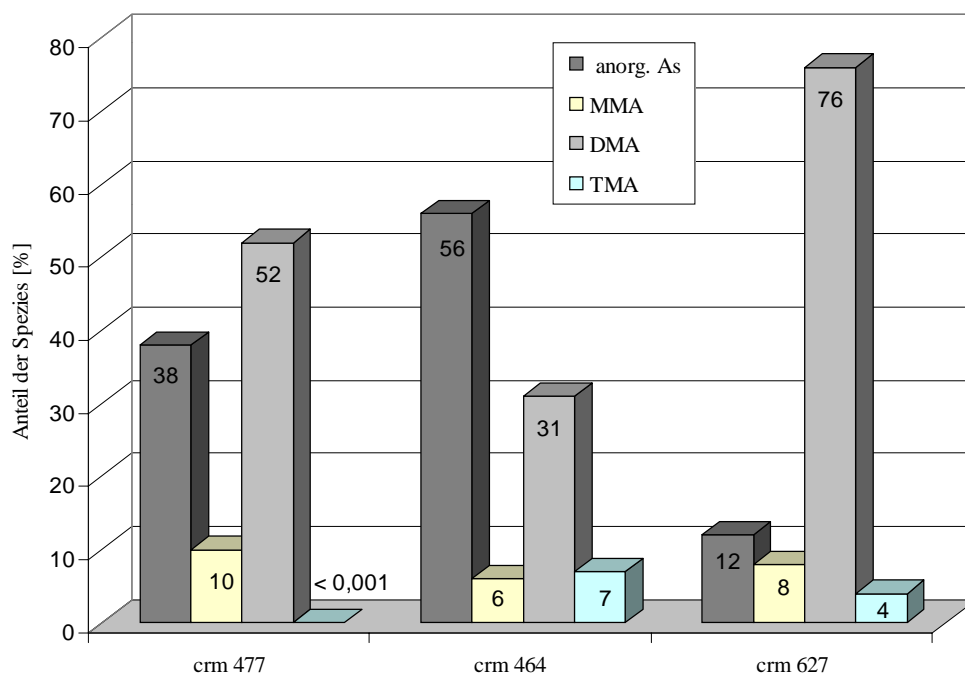
Der, unter Einbeziehung der Fehlergrenzen beider Bestimmungen, maximal gefundene Anteil von 42,7 % liegt somit in der geforderten Größenordnung.

Der Gehalt des Dimethylarsens in dem Thunfischgewebe ist zu  $320 \pm 48 \text{ ng As/g}$  zertifiziert und wurde als Mittelwert der von sechs Laboratorien mit unterschiedlichen Nachweismethoden detektierten Konzentrationen berechnet.

Die hier gefundene Konzentration des Dimethylarsens beträgt  $81,2 \pm 24 \text{ ng As/g}$ , somit konnten 38,7 % des zertifizierten Gehaltes nachgewiesen werden.

Die Konzentrationen der weiteren in den Thunfischmaterialien nachgewiesenen Spezies der Elemente Antimon, Arsen, Bismut, Iod, Quecksilber und Zinn sind in Tabelle A11 des Anhangs aufgeführt. Die Abbildungen A4 und A5 des Anhangs zeigen die Chromatogramme für Quecksilber in einer Probe des Referenzmaterials CRM 464 und für Arsen in einer Probe des Referenzmaterials CRM 627.

Die prozentualen Verteilungen der Arsen- und Zinnspezies in den drei Meerestierproben zeigen die Abbildungen 47 und 48.

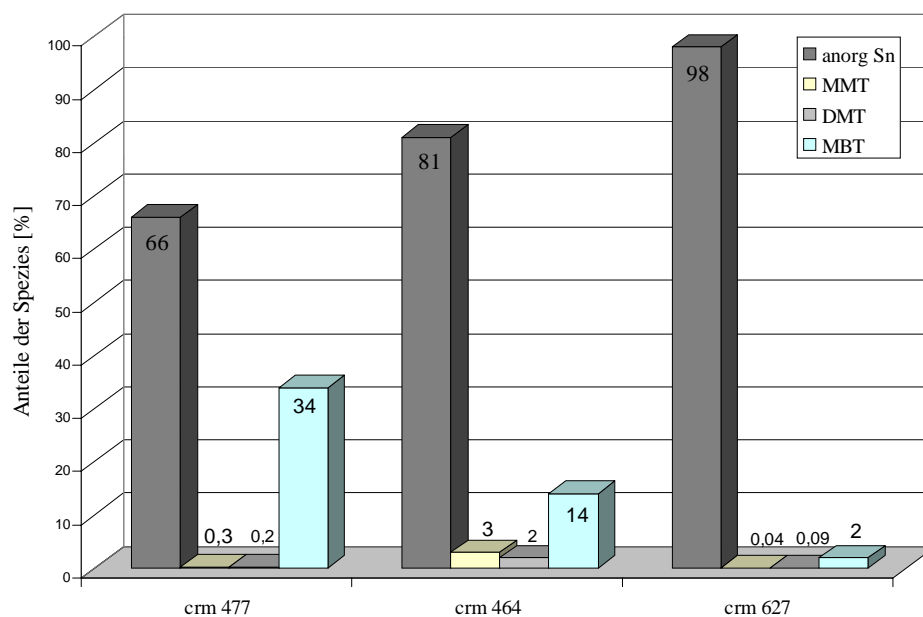


**Abbildung 47** Prozentuale Verteilung von Arsenspezies in den Referenzmaterialien CRM 447, CRM 464 und CRM 627

Anorganisches Arsen und Dimethylarsen stellen die beiden Hauptkomponenten dar, die Konzentrationen der Spezies MMA und TMA liegen insgesamt unter 13 % des nachgewiesenen Arsens. Dieses Resultat stimmt mit den prozentualen Verteilungen der in Tabelle 15 aufgelisteten Gehalte in Meeresfischen überein. Während keine Angaben über anorganisch vorliegendes Arsen vorhanden sind, liegt dort das AB mit 88 bis 99 % in allen Proben als Hauptbestandteil vor, mit Anteilen von 1 bis 12 % bildet das DMA ebenfalls den zweitgrößten Teil, während die Anteile des MMA und TMA weit unter 1 % liegen.



Das anorganische Zinn stellt sowohl im Muschelgewebe als auch in den beiden Thunfischproben mit bis zu 98 % das Gros des Zinns dar. Den restlichen Anteil bildet das MBT, während die prozentualen Anteile des MMT und DMT maximal 5 % betragen.



**Abbildung 48** Prozentuale Verteilung von Zinnspezies in den Referenzmaterialien CRM 447, CRM 464 und CRM 627

Die Referenzmaterialien CRM 464 und CRM 627 wurden mit den zertifizierten Verbindungen Methylquecksilber bzw. Dimethylarsen aufgestockt, jedoch konnten über die Standardadditionsmethode, entsprechend den in *Abschnitt 8.1* beschriebenen Umständen, keine Konzentrationen ermittelt werden.

## 9 Zusammenfassung und Ausblick

Klinische Proben enthalten, wie in der vorliegenden Arbeit gezeigt, ein breites Spektrum an metall- und metalloorganischen Verbindungen. Vor diesem Hintergrund, verbunden mit der Anforderung an das analytische Arbeiten, maximale Informationen mit minimalem Zeitaufwand bereitzustellen, wird für die Probenanalyse die Tendenz zur Anwendung einer speziesselktiven Multielementanalyse weisen.

Die hier vorgestellte Kopplung des eigenkonstruierten gaschromatographischen Separationssystems mit einer ICP-MS-Detektion stellt ein exzellentes Verfahren für die Trennung und den Nachweis von 44 Spezies der Elemente Antimon, Arsen, Bismut, Blei, Germanium, Iod, Quecksilber, Selen, Tellur und Zinn innerhalb von 20 Minuten dar. Da die Bindungsformen, in der die metall- und metalloorganischen Verbindungen in den klinischen Proben vorliegen, der Gasanalytik so nicht zugänglich sind, werden sie durch geeignete Maßnahmen in ihre korrespondierenden flüchtigen Derivate überführt.

Die hier verwandte Derivatisierungstechnik ist die Hydridgenerierung mittels Natriumborhydrid, durch die die größtmögliche Anzahl der Elemente und ihrer Spezies zugänglich ist. Die Absättigung freier Valenzen ionisch vorliegender Spezies mit Wasserstoff führt zur Bildung von tiefsiedenden Hydriden und Alkylhydriden der Metalle und Metalloide. Diese werden in Cryotrapping-Einheiten überführt und dort durch ein Adsorptionsmittel einkondensiert. Die Trennung der einzelnen Spezies wird durch den Einbau der Sammeleinheit in den Gaschromatographen realisiert, welcher die gasförmigen Spezies nun dem ICP-MS zur Detektion zuführt.

Die Untersuchung klinischer Proben ist ein wichtiges Gebiet in der Elementspezifizierung, die die Gesamtgehaltsbestimmung immer weiter in den Hintergrund drängt. Der Bedarf an Informationen über die Mobilität, Speicherung und Toxizität von metall- und metalloorganischen Verbindungen in biologischen Systemen, wie dem menschlichen Organismus, ist essentiell und erfordert Daten nicht nur über die Konzentration der vorhandenen Metall(oid)e, sondern auch über deren Bindungsformen.

Im Gegensatz zur angewandten Screening-Methode, die eine Einordnung der nachgewiesenen metall- und metalloorganischen Komponenten in einen Konzentrationsbereich von Nanogramm pro Kubikmeter, Liter oder Kilogramm ermöglicht, liegen die

Nachweisgrenzen der über eine Gesamtgehaltsbestimmung ermittelten Konzentrationen eine Größenordnung über den hier erreichten.

Aus toxikologischer Sicht ist die Bestimmung der Gesamtgehalte nicht relevant, da zum Teil die für die Gesundheit des Menschen bisher als unbedenklich eingestuften Spezies, wie beispielsweise das Arsenobetain im Humanurin nach Verzehr einer Fischmahlzeit, einen Großteil des Gesamtarsens darstellen und damit eine hohe Konzentration bedingen, welche jedoch toxikologisch nicht eingestuft werden kann. Hier greift nun die Speziierung, wobei die in der vorliegenden Arbeit angewendete Methode sogar eine Abtrennung der für den Organismus unbedenklichen Arsenkomponenten -wie das Arsenobetain, Arsenocholin und die Arsenszucker- von den toxikologisch relevanten durch deren Fähigkeit, Hydride zu bilden, ermöglicht.

Der Nachweis der metall- und metalloïdorganischen Verbindungen und der anorganisch vorliegenden Metalle oder Metalloïde gelingt also durch die Überführung dieser in den flüssigen und festen klinischen Proben gebunden vorliegenden Komponenten in ihre korrespondierenden flüchtigen Hydride. Hierbei sind jedoch Rückschlüsse auf die ursprünglichen Bindungspartner in der Probe nicht möglich. Damit steht der Nachweis des Dimethylarsenhydrids für das Vorliegen des Dimethylarsens in der Probe, wobei die dritte bzw. fünfte Valenz des Arsens sowohl mit einem Anion wie Chlorid oder Bromid als auch mit einem größeren organischen Molekül abgesättigt sein kann.

Bei der Bestimmung der Gesamtgehalte in löslichen Bestandteilen der Körperflüssigkeiten Urin und Speichel und der Alge *Chlorella pyrenoidosa* resultierten lediglich geringe Gehalte für die Elemente Iod und Bismut. Dies deutet auf komplex gebundene Metalle, Metalloïde und ihre Verbindungen in den biologischen Matrices, deren Freisetzung jedoch durch die Hydridgenerierung realisiert werden kann. Hierbei wurde besonderes Augenmerk auf die Reduzierung der Probenhandhabung zur Vermeidung von Kontaminationen und Umlagerungen oder Zerstörung vorliegender Spezies gerichtet. Dies bedingte ebenfalls einen Verzicht auf die Zugabe von Additiven zur Entfernung oder Komplexierung der bei der Hydrierung störenden Stoffe. Diese Vorgehensweise zur Kontaminationsvermeidung wird durch das Vorhandensein metall- und metalloïdorganischer Verbindungen sogar im Reduktionsmittel unterstützt.

Ebenfalls enthielt das bei der praktischen Arbeit versuchsweise verwendete Entschäumerprodukt extrem hohe Blindwerte der hier relevanten Verbindungen, was dazu

führte, dass keine weiteren Additive den klinischen Proben zugesetzt wurden, um eine Verfälschung der Ergebnisse zu vermeiden.

Die Tatsache, dass es gelang, in einem hydrophoben Entschäumerprodukt metall- und metalloorganische Verbindungen zu detektieren, zeigt allerdings auch die vielseitige Anwendbarkeit der hier vorgestellten Nachweismethode.

Ein breites Spektrum klinischer Proben wurde auf das Vorliegen von metall- und metalloorganischen Verbindungen hin analysiert, wobei die Gewährleistung der Stabilität der Spezies in den Probenmatrices während der Lagerung und Bearbeitung für die verschiedenen Proben realisiert wurde. Weiterhin wurde durch kontinuierliche Kontrollen der verwendeten Hydrierapparatur und des Gaschromatographen ein blindwertfreies Arbeiten sichergestellt.

Anhand der Matrix Urin wurde die hier vorgestellte Methode auf die Analyse von klinischen Matrices transferiert. Die Lagerung und Hydrierung der Urinproben stellten keine Probleme dar. Nach dreimonatiger Aufbewahrung der Proben bei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  traten keine Speziesveränderungen oder -verluste auf.

Die Untersuchung von vierzig Urinproben aus einer Querschnittsstudie der Bevölkerung Bremens lieferte die Grundlage in Form eines Basiswissens über Konzentrationen der in den Urinen vorliegenden Spezies.

Weitere Studien mit Kontrolle des Ausscheidungsproduktes Urin zeigten die Auswirkung von Fischverzehr auf Arsen- und Quecksilberkonzentrationen in den Harnproben oder die forcierte Ausscheidung von Arsen-, Selen-, Quecksilber- und Zinnverbindungen nach Einnahme des metall- und metallobindenden Präparates Asparagus P.

Die für Urinproben in dieser Arbeit ermittelten prozentualen Verteilungen der Spezies des Arsens stimmten immer mit den in der einschlägigen Literatur angegebenen überein.

Hierbei gelang der Nachweis von Trimethylarsen in Urinproben unbelasteter Probanden, was die These von der Trimethylierung des anorganisch aufgenommenen Arsens im menschlichen Organismus unterstützt.

Mono- und dimethylierte Antimonpezies wurden erstmalig im Urin nachgewiesen, wobei die positive Korrelation der Konzentrationen der beiden Komponenten ein Anzeichen für die Methylierung des Antimons im menschlichen Körper analog der des Arsens sein könnte.

Ein Vergleich der Atemproben von Probanden mit und ohne Amalgamfüllungen lieferte insbesondere nach dem Kauen von Kaugummi einen Nachweis des elementaren Quecksilbers in der Expiration der Amalgamträger, wohingegen im Atem der amalgamfreien Probanden kein Quecksilber nachgewiesen wurde. Hierbei wurde ein tägliches Entweichen von 2 bis 17 µg Quecksilber aus den mit Amalgam versorgten Zähnen kalkuliert.

Weiterhin gelang in Atemproben der Nachweis von Dimethylselen, und in Urinproben wurden Monomethylselen und Dimethyldiselen detektiert. Im Gegensatz dazu wurden keine Selenspezies in Stuhlproben gefunden. Dies steht im Einklang mit dem bekannten Selenmetabolismus im menschlichen Körper, der durch eine Reduktion des aufgenommenen Selen zu Selenwasserstoff und eine anschließende schrittweise Methylierung des Selen vollzogen wird. Die Ausscheidung der methylierten und permethylierten Produkte erfolgt einzig über den Atem und den Harn.

Eine weitere Ausscheidungsmöglichkeit für metall- und metalloïdorganische Verbindungen aus dem Organismus bietet das Haar, wobei dessen Analysen bisher lediglich als Gesamtgehaltsbestimmung erfolgten. Die hier für die Haarproben durchgeführte Speziierung lieferte ein breites Spektrum an metall- und metalloïdorganischen Verbindungen. So wurden neben anorganischem, mono- und dimethyliertem Arsen auch anorganisches und monomethyliertes Antimon, sämtliche nachweisbaren Zinnspezies sowie anorganisches Quecksilber, Monomethylquecksilber und Ethylmethylquecksilber mit Konzentrationen im ng/kg- bis µg/kg-Bereich nachgewiesen. Eine Einordnung oder Beurteilung der ermittelten Gehalte ist auf Grund fehlender Vergleichswerte in der Literatur nicht möglich.

Studien mit Kontrolle des intestinalen Ausscheidungsproduktes Stuhl zeigten die forcierte Ausscheidung von Germanium-, Arsen-, Quecksilber- und Zinnverbindungen nach Einnahme der metall- und metalloïdbindenden Alge *Chlorella pyrenoidosa*, wobei in zwei der analysierten Stuhlproben erstmalig der Nachweis anorganischen Tellurs gelang.

In Speichelproben von Amalgamträgern wurde anorganisches Quecksilber nachgewiesen, während die Speichelproben einen Tag nach der Entfernung der Füllungen kein Quecksilber mehr aufwiesen. Die Gewinnung einer weiteren Speichelprobe fand unmittelbar nach dem Entfernen der Amalgamfüllungen und fünfminütigem Vermischen der Alge *Chlorella pyrenoidosa* mit dem Speichel im Mund statt.

Der Nachweis von Methyl-, Dimethyl- und Ethylmethylquecksilber in dieser Speichelprobe deutet auf eine Methylierung des im Amalgam vorhandenen Quecksilbers durch die Mundflora hin.

Ebenso wurde in Stuhlproben ein und zwei Tage nach der Entfernung von vier Amalgamfüllungen Methyl- und Dimethylquecksilber in Konzentrationen von 44 und 25 µg Hg/kg Stuhl nachgewiesen werden. Da im Rahmen dieser Studie ebenfalls nur das Amalgam als Quecksilberquelle zur Verfügung stand, gelang damit der Nachweis der Methylierung des Quecksilbers im Darm des menschlichen Körpers.

Diese Methylierung wurde bisher nur In-vitro beobachtet, hier liegen nun die ersten Hinweise auf eine In-vivo Methylierung des Quecksilbers sowohl in der Mund- als auch in der Darmflora vor.

Anhand der parallelen Kontrolle der Ausscheidungsprodukte Urin und Stuhl wurden für die Spezies der nachgewiesenen Elemente Verteilungsschemata ihrer Eliminierung aus dem Organismus aufgezeigt.

Konträr zur Ausscheidung des anorganischen Quecksilbers, die überwiegend über den Urin erfolgt, werden die methylierten Quecksilberspezies fast vollständig über den Darm eliminiert.

Die in der Literatur angegebene Hauptausscheidung des Arsens über den Harn konnte verifiziert werden, da für die beiden Hauptkomponenten des Arsens in den Ausscheidungsprodukten Urin und Stuhl Mono- und Dimethylarsen eine Eliminierung von etwa 90 % mit dem Urin beobachtet wurde. Die Eliminierung des anorganischen Arsens hingegen erfolgt zu einem Anteil von 62 bis 91 % über den Stuhl. Hierbei ist auffällig, dass bei höheren Konzentrationen des anorganischen Arsens die Beteiligung des intestinalen Ausscheidungsweges zunimmt. Im Gegensatz dazu ist bei geringeren Konzentrationen in den Urinproben ein Anteil von etwa 36 % des gesamten anorganischen Arsens nachweisbar. Demzufolge scheint eine Kontrolle der organischen Arsenverbindungen über den Urin gegenüber einer Kontrolle des anorganischen Arsens über den Stuhl empfehlenswert.

Die Eliminierung sowohl des anorganischen Zinns, des Mono-, Di- und Trimethylzinns als auch des Monobutylzinns erfolgt zu über 90 % mit dem Stuhl.

Eine Unterscheidung der anorganisch und der organisch vorliegenden Komponenten wie im Falle des Arsens oder Quecksilbers bezüglich ihres Ausscheidungsweges wurde beim Element Zinn nicht beobachtet.

Folglich kann eine geringe Absorption der anorganischen Zinnverbindungen im Organismus und die größtenteils ohne Metabolisierung direkte Ausscheidung über die Faces anhand der vorliegenden Ergebnisse bestätigt werden.

Die nachgewiesenen Konzentrationen des anorganischen Antimons deuten auf eine überwiegende Ausscheidung mit dem Urin hin.

Eine weitere Studie stellte die Kontrolle der metall- und metalloiddhaltigen Bestandteile der Expiration, des Speichels und des Urins nach Verzehr einer mit Arsen, Bismut, Quecksilber und Selen angereicherten Mahlzeit in den Vordergrund.

Die Analyse der Atemproben zeigte bezüglich des Elementes Bismut eine Korrelation zu seiner Aufnahme in Form eines anorganischen Salzes in den Organismus.

In Atemproben wurde nach dem Verzehr der Bismuttabletten neben anorganischem Bismut und Mono- ebenfalls Trimethylbismut nachgewiesen. Im Urin dieses Probanden gelang der Nachweis von Mono- und Dimethylbismut, wohingegen in seinem Speichel kein Bismut nachgewiesen wurde.

Dies deutet auf eine Methylierung des in anorganischer Form aufgenommenen Bismuts im menschlichen Organismus hin.

Die zugeführte Menge Arsen zeigt keine Auswirkungen auf die Atem- oder Speichelproben, jedoch wurde in den Urinproben nach Verzehr der angereicherten Mahlzeit neben DMA als Hauptkomponente auch MMA und TMA nachgewiesen, wobei der Referenzurin lediglich ein Drittel der DMA-Konzentration des nach der Mahlzeit genommenen Urins aufwies. Die entspricht den in der Literatur vorhandenen Angaben der Konzentrationsverdopplung des DMA nach Verzehr einer Fischmahlzeit.

Ebenso wiesen die Urinproben die erwarteten höheren Konzentrationen für anorganisches Quecksilber und Monomethylquecksilber nach Verzehr einer 300 g Thunfischportion auf.

Weiterhin sollte im Rahmen dieser Arbeit die sehr komplexe Matrix Blut auf ihre Hydrier- und Analysierbarkeit hin überprüft werden. Auf Grund der sowohl in den Vollblutproben als auch im Blutplasma oder Serum vorliegenden Proteine wurde die Standardhydrierung wegen der auftretenden Schaumbildung bei Durchleitung des Trägergases nicht durchgeführt.

Die Verwendung eines Entschäumerpräparates gewährleistete zwar eine praktikable Hydrierbarkeit der Proben, jedoch trat durch das Vorliegen von metall(oid)organischen Verbindungen im Entschäumer selbst eine unerwünschte Blindwertproblematik auf.

Als Lösungsansatz wird die Zerstörung des Schaums durch Anwendung mechanischer Prozesse gesehen. Hierzu könnte sowohl der Einsatz eines feinporigen teflonisierten Siebes über der Flüssigkeitsoberfläche zur Verhinderung der Bildung großer Blasen als auch der Einsatz eines Rührers zur Zerstörung der im Gasraum befindlichen Schaumblasen dienen.

Die wichtigsten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sollen hier zum Abschluss noch einmal zusammengefasst werden:

Mit dem vorgestellten eigenkonstruierten gaschromatographischen System gelang der Aufbau einer Multielement-Multispezies-Nachweismethode, die eine Speziierung klinischer und biologischer Proben ermöglicht.

Die Speziierung einiger klinischer Matrices wurde erstmalig durchgeführt, wobei der Nachweis einer Vielzahl von Spezies der Elemente Arsen, Antimon, Bismut, Selen, Quecksilber und Zinn erbracht wurde.

Es wurden sowohl in der Literatur vorhandene Angaben, wie die Arsenspeziesverteilung in Urinproben, das Entweichen von Quecksilber aus Amalgamfüllungen oder Ausscheidungspfade der einzelnen Spezies unterschiedlicher Elemente bestätigt als auch neue Erkenntnisse über das Verhalten der metall- und metalloïdorganischen Verbindungen im menschlichen Körper gewonnen.

Die Methylierung von Selen und Arsen im Organismus wurde reproduziert, wobei hier auch der Nachweis des Trimethylarsens in Humanurinen gelang.

Weiterhin wurden für die Elemente Antimon und Bismut erste In-vivo Hinweise auf eine Methylierung im Organismus gefunden. Die Studien über das Element Quecksilber lassen sogar auf die Methylierung anorganischen Quecksilbers sowohl in der Mund- als auch in der Darmflora schließen.

Wie aus dem eben dargestellten hervor geht, bieten sich hier der Forschung einige erfolgversprechende Ansatzpunkte zur Fortführung und Vertiefung der Studien.



## 10 Literaturverzeichnis

- **Aposhian HV**, 1989, Rev Biol Toxicol, Elsevier, Amsterdam
- **Aposhian HV**, Gurzau ES, Le XC, Gurzau A, Healy SM, Lu X, Ma M, Yip L, Zakharyan RA, Maiorino RM, Dart RC, Tircus MG, Gonzales-Ramirez D, Morgan DL, Avram D, Aposhian MM, 2000, Chem Res Toxicol, 13, 693-697
- **Apostoli P**, 1999 Fresenius J Anal Chem, 363, 499-504
- **Apostoli P**, Cortesi I, Mangili A, Elia G, Drago I, Gagliardi T, Soleo L, Valente T, Sciarpa GF, Aprea C, Ronchi A, Minoias C, 2002, Sci Tot Environ, 289, 13-24
- **Akagi H**, Malm O, Branches FJP, Kinjo Y, Kashima Y, Guimaraes JRD, Oliveira RB, Haraguchi K, Pfeiffer WC, Takizawa Y, Kato H, 1995, Wat Air Soil Poll, 80, 85-94
- **Amouroux D**, Tessier E, Pecheyran C, Donard OFX, 1998, Anal Chim Acta, 377, 241-254
- **Amouroux D**, Pecheyran C, Donard OFX, 2000, Appl Organomet Chem, 14, 236-244
- **Andrewes P**, Cullen WR, Polishchuk E, 2000a, Chemosphere, 41, 1717-1725
- **Andrewes P**, Cullen WR, Polishchuk E, 2000b, Environ Sci Technol, 34, 2249-2253
- **Babi D**, Vasjari M, Lazo P, Asian J Chem, 13, 837-842
- **Bailly R**, Lauwerys R, Buchet JP, Mahieu P, Konings J, 1991, Br J Ind Med, 48, 93-97
- **Barceloux DG**, 1999, Clin Toxicol, 37, 145-172
- **Bauzen**, 2002, Medizinisches Fachlabor, <http://www.labor-bautzen.de>
- **Begerow J**, Zander D, Freier I, Dunemann L, 1994, Int Arch Occup Environ Health, 66, 209-212
- **Begerow J**, Turfeld M, Dunemann L, 1997, J Anal Atomic Spec, 12, 1095-1098
- **Bentley R**, Chasteen TG, 2002, Microbiol Molecul Biol Rev, 66, 250-272
- **Berlin M**, 1979, *Mercury* in Handbook on the Toxicology of Metals, Elsevier, Amsterdam
- **Betti C**, Davini T, Barale R, 1992, Mut Res, 281, 255-260
- **Boyer IJ**, 1989, Toxicol, 55, 253-298
- **Brett I**, Cohen PD, Penugonda B, 2001, J Prosthet Dent, 85, 409-412
- **Brunetto MR**, Luna JR, Zambiano A, Gallignani M, Burguera M, Burguera JL, Petit de Pena Y, Analyst, 124, 1493-1499
- **Buchet JP**, Lauwerys R, 1988, Biochem Pharmacol, 37, 3149-3153
- **Buchet JP**, Lauwerys R, 1994, Appl Organomet Chem, 8, 191-196
- **Bulten EJ**, Meinema HA, 1991, in Metals and their Compounds in the Environment, VCH-Verlag, Weinheim
- **Buratti M**, Calzaferri G, Caravelli G, 1984, Intern J Environ Anal Chem, 17, 25-34
- **Burger J**, Gaines KF, Boring CS, Stephens WL, Snodgrass J, Dixon C, McMahon M, Shakla T, Gochfeld M, 2002, Environ Res Sec A, 89, 85-97

- **Burns R**, Thomas DW, Barron VJ, 1974, Br Med J, 1, 220-223
- **Byczkowski JZ**, Lipscomb JC, 2001, Risk Analysis, 21, 869-882
- **Cai Y**, Alzaga R, Bayona JM, 1994, Anal Chem, 66, 1161-1167
- **Cao TH**, Cooney RA, Woznichak MM, May SW, Browner RF, 2001, Anal Chem, 73, 2898-2902
- **Carl E**, 2002, Beratungsstelle für Amalgamvergiftungen, Gräflingen
- **Castro MS**, McLaughlin EN, Davis SL, Maorgan RP, 2002, Arch Environ Contam Toxicol, 42, 454-462
- **Ceulemans M**, Adams FC, 1996, J Anal Atomic Spectrom, 11, 201-206
- **Challenger F**, 1945, Chem Rev, 36, 315-361
- **Challenger F**, 1951, Adv Enzymol, 12, 429-439
- **Chang LW**, 1996, Toxicology of Metals, CRC Boca Raton, New York
- **Chen H**, Yoshida K, Wanibuchi H, Fukushima S, Inoue Y, Endo G, 1996, Appl Organomet Chem, 10, 741-745
- **Cherian MG**, Hursh JB, Clarkson TW, Allen J, 1978, Arch Environ Health, 33, 109-114
- **Chiou CS**, Jiang SJ, Danadurai KSK, 2001, Spectrochim Acta Part B, 56, 1133-1142
- **Clarkson TW**, 1997, Crit Rev Clin Lab Sci, 34, 169-203
- **Cleckner LB**, Garrison PJ, Hurley JP, Olson ML, Krabbenhoft DP, 1998, Biogeochem, 40, 347-361
- **Cohen SM**, Yamamoto S, Cano M, Arnold LL, 2001, Toxicol Sci, 59, 68-74
- **Cornelis R**, Crews H, Donard OFX, Ebdon L, Quevauviller P, 2001, Fresenius J Anal Chem., 370, 120-125
- **Cox C**, Clarkson TW, Marsh DO, Amin-Zaki L, Tikriti SA, Myers GG, 1989, Environ Res, 49, 318-332
- **Craig PJ**, Jenkins RO, Dewick R, Miller DP, 1999a, Sci Tot Environ, 229, 83-88
- **Craig PJ**, Jenkins RO, Stojak GH, 1999b, Chemosphere, 39, 1181-1197
- **Craig PJ**, 1986, Organometallic Compounds in the Environment, Longman, Harlow
- **Craig PJ**, Forster SN, Jenkins RO, Miller D, 1999, Analyst, 124, 1243-1248
- **Crompton TR**, 1998, Occurrence and Analysis of Organometallic Compounds in the Environment, VCH-Verlag, Weinheim
- **Cullen WR**, Reimer KJ, 1989, Chem Rev, 89, 713-764
- **Cullen WR**, Li H, Pergantis SA, Eigendorf GK, Mosi AA, 1995, Appl Organomet Chem, 89 507-515
- **Dedina J**, Tsalev DL, 1995, Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry, John Wiley & Sons, New York
- **Diego de A**, Tseng CM, Stoichev T, Amouroux D, Donard OFX, 1998, J Anal Atom Spec, 13, 623-629

- **DIN 32633**, 1998, Deutsches Institut für Normierung, Beuth Verlag GmbH, Berlin
- **D'Itri FM**, 1990, Environ Monit Assess, 19, 165-182
- **Dodd M**, Grundy SL, Reimer KJ, Cullen WR, 1992, Appl Organomet Chem, 6, 207-211
- **Donard OFX**, 1989, Atomspektrometrische Spurenanalytik, Perkin Elmer GmbH, Überlingen
- **Dore FY**, Goulet S, Gallagher A, Harvey PO, Cantin JF, D'Aigle T, Mirault ME, 2001, Neurotoxicol Teratol, 23, 463-472
- **Drasch G**, 1999, Umweltmedizin-Quo Vadis, 97. Ärztlicher Fortbildungskongress, Freudenstadt
- **Dub M**, 1967, Organo Metallic Compounds, Vol II, Springer Verlag, Berlin
- **Dunemann L** Begerow J, 1995, Kopplungstechniken zur Elementspeziesanalytik, VCH Verlag, Weinheim
- **Dunemann L**, Hajimiragha H, Begerow J, 1999, Fresenius J Anal Chem, 363, 466-468
- **Dyne D**, Chana BS, Smith NJ, Cocker J, 1991, Analyt Chim Acta, 246, 351-357
- **Ebdon L**, Fisher A, Roberts NB, Yaqoob M, 1999, Appl Organomet Chem, 13, 183-187
- **Ebdon L**, Pitts L, Cornelis R, Crews H, Donard OFX, Quevauviller P, 2001, Trace Element Speciation, MPG Books Ltd, Cambridge
- **Egeland GM**, Middaugh JP, 1997, Science, 278, 1904-1905
- **Ehrenstein C**, 1999, Dissertation, Fachbereich Bio- und Geowissenschaften, Universität Essen
- **El-Bayoumy K**, 2001, Mut Res, 475, 123-139
- **Ellenhorn MJ**, Barceloux DG, 1988, Medical Toxicology, Elsevier, New York
- **Emons H**, 2001, Fresenius J Anal Chem, 370, 115-119
- **Engqvist A**, Colmsjoe A, Skare I, 1998, Arch Environ Health, 53, 205-213
- **Feldmann J**, 1995, Dissertation, Institut für Umweltanalytik und angewandte Geochemie, Universität Essen
- **Feldmann J**, Riechmann T, Hirner AV, 1996, Fresenius J Anal Chem, 354, 620-623
- **Feldmann J**, 1997, J Anal Atomic Spec, 12, 1069-1076
- **Feldmann J**, Lai VWM, Cullen WR, Ma M, Lu X, Le XC, 1999, Clin Chem, 45, 1988-1997
- **Feldmann J**, John K, Pengprecha P, 2000, Fresenius J Anal Chem, 368, 116-121
- **Feldmann J**, 2001, Chem Brit, 1, 31-32
- **Fernandez RG**, Bayon MM, Alonso JIG, Sanz-Medel A, 2000, J Mass Spectrom, 35, 639-646
- **Finnholt AE**, Bond AC, Wilzbach KE, Schlesinger HI, 1947, J Am Soc, 69, 2692-2696
- **Fischer RG**, Rapsomanikis S, Andreae MO, Bladie F, 1995, Environ Sci Technol, 29, 993-999
- **Förstner U**, 1993, Umweltschutztechnik, Springer Verlag, Berlin
- **Gallus SM**, Heumann KG, 1999, Posterpräsentation, 15. ICP-MS Anwendertreffen, Institut für Festkörper und Werkstoffforschung, Dresden
- **Gammelgaard B**, Jons O, 2000, J Anal At Spectrom, 15, 945-949
- **Gammelgaard B**, Jons O, Bendahl L, 2001, J Anal At Spectrom, 1, 339-344

- **Ganss C**, Gottwald B, Traenckner I, Kupfer J, Eis D, Möch J, Gieler U, Klimek J, 2000, Clin Oral Invest, 4, 206-211
- **Gebel T**, Dunkelberg H, 1996, Zbl Hyg, 199, 69-75
- **Gebel T**, 1997, Chemico Biolog Interact, 107, 131-144
- **Gebel T**, 2000, Toxicol, 144, 155-162
- **Gibson GR**, Macfarlane GT, Cummings JH, 1988, J Appl Bacteriol, 65, 103-111
- **Gibson GR**, Cummings JH, Macfarlane GT, Allison C, Segal I, Vorster HH, Walker ARP 1990, Gut, 31, 679-683
- **Gill GA**, Fitzgerald WF, 1987, Marine Chem, 20, 227-243
- **Gmelin**, 1978, Handbuch der Anorganischen Chemie, Zinnorganische Verbindungen, Teil 1, 26, 8. Auflage
- **Gmelin**, 1981, Handbuch der Anorganischen Chemie, Antimonorganische Verbindungen, Teil 2, 8. Auflage
- **Goessler W**, Schlagenhaufen C, Kuehnelt D, Greschonig H, Irgolic KJ, 1997, Appl Organomet Chem, 11, 327-335
- **Gong Z**, Lu X, WR Cullen, Le XC, 2001, J Anal At Spectrom, 16, 1409-1413
- **Gonzales La Fuente JM**, Marchante-Gayon JM, Fernandez Sanchez ML, Sanz-Medel A, 1999, Talanta, 50, 207
- **Gregus Z**, Gyurasics A, Koszorus L, 1998, Environ Toxicol Pharmacol, 5, 89-99
- **Greim H**, Halbach S, 1998, Wiss Aktuell, 1, 168
- **Griefhahn B**, 1996, Arbeitsmedizin, 3. Auflage, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
- **Grümping R**, 1993, Diplomarbeit, Institut für Umweltanalytik und angewandte Geochemie, Universität Essen
- **Grüter UM**, 1998, Diplomarbeit, Institut für Umweltanalytik und angewandte Geochemie, Universität Essen
- **Grüter UM**, Kresimon J, Hirner AV, 2000, Fresenius J Anal Chem, 368, 67-72
- **Grüter UM**, Hitzke M, Kresimon J, Hirner AV, 2001, J Chromatography A, 938, 225-236
- **Gui-bin J**, Qun-fang Z, Bin H, 2000, Bull Environ Contam Toxicol, 65, 277-284
- **Gürleyük H**, Van Fleet-Stadler V, Chasteen TG, 1997, Appl Organomet Chem, 11, 471-483
- **Gou T**, Baasner J, Tsalev DL, 1997, Analyt Chim Acta, 349, 313-318
- **Gurnani N**, Sharma A, Talukder G, 1992, Biometals, 5, 47-50
- **Haas K**, Feldmann J, 2000, Anal Chem, 72, 4205-4211
- **Hakala E**, Pyu L, 1995, 77, 249-258
- **Hammerschmidt CR**, Fitzgerald F, 2001, Anal Chem, 73, 5930-5936
- **Han BC**, Jeng WL, Chen RY, Fang GT, Hung TC, Tseng RJ, 1998, Arch Environ Contam Toxicol, 35, 711-720

- **Hanaoka K**, Goessler W, Ohno H, Irgolic KJ, Kaise T, 2001, Appl Organomet Chem, 15, 61-66
- **Harada M**, 1978, Japan Quarterly, 25, 20-34
- **Healy SM**, Zakharyan RA, Aposhian HV, 1997, Mutat Res, 386, 229-239
- **Heintze U**, Edwardsson S, Derand T, Birkhed D, 1983, Scan J Dent Res, 1, 150-152
- **Herrström P**, Högstedt B, Holthuis N, Schütz A, Rastam L, 1997, Int Arch Occup Environ Health, 69, 339-342
- **Hintelmann H**, Evans RD, Villeneuve JY, 1995, J Anal Atom Spec, 10, 619-624
- **Hippler J**, 2002, mündliche Aussage
- **Hirner AV**, Feldmann J, Krupp EM, Grümping R, Goguel R, Cullen WR, 1998, Org Geochem, 29, 1765-1778
- **Hirner AV**, Rehage H, Sulkowski M, 2000a, Herkunft, Mobilität und Analyse von Schadstoffen in der Pedosphäre, Steinkopff Verlag, Darmstadt
- **Hirner AV**, Grüter UM, Kresimon J, 2000b, Fresenius J Anal Chem, 368, 263-267
- **Hitzke M**, 2000, Vertiefungsarbeit, Institut für Umweltanalytik und angewandte Geochemie, Universität Essen
- **Homma-Takeda S**, Kugenuma Y, Iwamuro T, Kumagai Y, Shimojo N, 2001, Toxicol, 169, 25-35
- **Hoover TD**, Aposhian HV, 1983, Appl Pharmacol, 70, 160-162
- **Houeto P**, Sandouk P, Baud FJ, Levillain P, 1994, Human Exp Toxicol, 13, 848-852
- **Hunter D**, Bomford RR, Russell DS, 1940, Q J Med, 9, 193
- **Hupertz D**, 1998, Quecksilberamalgame, Internet: <http://www.free.de/WiLa/derik/Amalgam.html>
- **Ishihara N**, 2000, Arch Environ Health, 55, 44-47
- **Iwata H**, Tanabe S, Mizuno T, Tatsukawa R, 1997, Appl Organomet Chem, 11, 257-264
- **Jenkins RO**, Craig PJ, Miller DP, Stoop LCAM, Ostah N, Morris TA, 2000, Appl Organomet Chem, 12, 449-455
- **Jenkins RO**, Craig PJ, Goessler W, Miller D, Ostah N, Irgolic KJ, 1998, Environ Sci Technol, 32, 882-885
- **Jiang S**, Robberecht H, Adams F, 1983, Atmos Environ, 17, 111
- **Jiang GB**, Adams FC, 1996, Analyt Chim Acta 337, 83-91
- **Jiang L**, Goessler W, Irgolic KJ, 2000, Fresenius J Anal Chem, 366, 48-53
- **Jones LW**, Werner L, 1918, J Am Chem Soc, 40, 1257-1275
- **Jonsson F**, Sandborgh-Englund G, Johanson G, 1999, Toxicol Appl Pharmacol, 155, 161-168
- **Kavanagh P**, Farago ME, Thornton I, Goessler W, Kuehnelt D, Schlagenhufen C, Irgolic KJ, 1998, Analyst, 123, 27-29
- **Kazantzis G**, 1986, Handbook on the Toxicology of Metals, Elsevier, New York

- **Kläntschi N**, Lieneman P, Richner P, Vonmont, H, 1996, Elementanalytik, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
- **Klinghardt D**, 1997, Erfahrungsheilkunde, 48, 7
- **Kobayashi H**, Suzuki T, Kasashima Y, Motegi A, Sato I, Matsusaka N, Ono N, Miura A, Saito F, Saito S, 1996, Jpn J Pharmacol, 72, 317-324
- **Koch I**, Feldmann J, Lintschinger J, Serves SV, Cullen WR, Reimer KJ, 1998, Appl Organomet Chem, 12, 129-136
- **Kösters J**, 2002, Diplomarbeit, Institut für Umweltanalytik und angewandte Geochemie, Universität Essen
- **Kosta L**, Bryne AR, Zelenko V, 1975, Nature, 254, 238-239
- **Krachler M**, Irgolic KJ, 1999, J Trace Elements Med Biol, 13, 157-169
- **Krachler M**, Emons H, 2001, J Anal At Spectrom, 16, 20-25
- **Krachler M**, Emons H, Zheng J, 2001, Trend Anal Chem, 20, 79-90
- **Krauß P**, Deyhle M, Maier KH, Roller E, Weiss HD, Cledon P, 1998, Field Study on the Mercury Content of Salvia, Internet: <http://www.sevaonline.com/English/tubingen.html>
- **Keienbrock L**, Schach S, 1997, Epidemiologische Methoden, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
- **Krupp EM**, Grümping R, Furchtbar URR, Hirner AV, 1996, Fresenius J Anal Chem, 354, 546-549
- **Krupp EM**, 1999, Dissertation, Institut für Umweltanalytik und angewandte Geochemie, Universität Essen
- **Kulig K**, 1998, Engl J Med, 338, 1692-1694
- **Kuroda K**, Endo G, Okamoto A, Yoo YS, Horiguchi S, 1999, Mutat Res, 264, 163-170
- **Largarde F**, Amran MB, Leroy MJF, Demesmay C, Olle M, Lamotte A, Muntau H, Michel P, Thomas P, Caroli S, Larsen E, Bonner P, Rauret G, Foulkes M, Howard A, Griepink B, Maier EA, 1999, Fresenius J Anal Chem, 363, 18-22
- **Larsen EH**, Pritzl G, Hansen SH, 1993, J Anal At Spectrom, 8, 557-563
- **Lascourreges JF**, Caumette P, Donard OFX, 2000, Appl Organomet Chem, 14, 98-107
- **Le XC**, Ma M, 1998, Anal Chem, 70, 1926-1933
- **Le XC**, Ma M, Lu X, Cullen WR, Aposhian HV, Zheng B, 2000a, Environ Health Perspect, 108, 1015-1018
- **Le XC**, Lu X, Ma M, Cullen WR, Aposhian HV, Zheng B, 2000b, Anal Chem, 72, 5172-5177
- **Lee TC**, Oshimura M, Barrett JC, 1985, Carcinogen, 6, 1421-1426
- **Lehmann B**, Ebeling E, Alsen-Hinrichs C, 2001, Gesundheitswesen, 63, 42-48
- **Leung F**, Edmond P, Bradley C, 2000, Metal Ions Biol Med, 6, 794-796
- **Li F**, Goessler W, Irgolic KJ, 1998, Anal Commun, 35, 361-364
- **Liang L**, Brooks RJ, 1995, Wat Air Soil Poll, 80, 103-107

- **Liang L**, Evens C, Lazoff S, Woods JS, Cernichiari E, Horvat M, Martin MD, DeRouen T, 2000, J Anal Toxicol, 24, 328-332
- **Limke TL**, Atchison WD, 2002, Toxicol Appl Pharmacol, 178, 52-61
- **Lindemann T**, Prange A, Dannecker W, Neidhart B, 2000, Fresenius J Anal Chem, 368, 214-220
- **Lin S**, Cullen WR, Thomas DJ, 1999, Chem Res Toxicol, 12, 924-930
- **Lobinski R**, Edmonds JS, Suzuki, KT, Uden PC, 2000, Pure Appl Chem, 72, 447-461
- **Löffler G**, Petrides PE, 1988, Physiologische Chemie, Springer Verlag, Berlin
- **Ludwicki JK**, 1989, Bull Environ Contam Toxicol, 42, 283-288
- **Lück BE**, Mann H, Melzer H, Dunemann L, Begerow J, 1999, Nephrol Dial Transplant, 14, 2464-2468
- **Lygre GB**, Hol PJ, Eide R, Isrenn R, Gjerdet NG, 1999, Clin Oral Health, 3, 216-218
- **Mackert JR**, Berglund A, 1997, Crit Rev Oral Biol Med, 8, 410-436
- **Madrid Y**, Camara C, 2000, Element Speciation, Elsevier, Amsterdam
- **Maeda S**, 1994, in The Chemistry of Organic Arsenic, Antimony and Bismut Compounds, John Wiley & Sons, New York
- **Magos L**, Brown AW, Sparrow S, Bailey E, Snowden RT, Skipp WR, 1983, Arch Toxicol, 57, 260-267
- **Magos L**, 1998a, *Mercury* in Handbook on Toxicity of Inorganic Compounds, Marcel Dekker Verlag, New York, 419-436
- **Magos L**, 1998b, Arch Toxicol, 72, 701-705
- **Magos L**, 2001, J Appl Toxicol, 21, 1-5
- **Mahaffey KR**, Rice GE, 1997, An Assessment of Exposure to Mercury in the United States, Environmental Protection Agency EPA 452/R/97-006
- **Mahapatra S**, Tripathi RM, Raghunath R, Sasasivan S, Sci Tot Environ, 277, 217-223
- **Maier EA**, Demesmay C, Olle M, Lamotte A, Lagarde F, Heimburger R, Leroy MJF, Asfari Z, Muntau H, 1997, European Commission, Report EUR 17889 EN, Luxemburg
- **Mandal BK**, Ogra Y, Suzuki KT, 2001, Chem Res Toxicol, 14, 371-378
- **Maquard H**, 1994, Lehrbuch der Toxikologie, BI Wissenschaftsverlag, Mannheim
- **Marchante-Gayon JM**, Feldmann I, Thomas C, Jakubowski N, 2001, J Anal At Spectrom, 16, 457-463
- **Martin FM**, Donard OFX, 1995, Fresenius J Anal Chem, 351, 230-236
- **Mass MJ**, Wang L, 1997, Mutat Res, 386, 263-277
- **Mayer R**, Dobler J, Gehlen S, Grandl M, 1994, Die Quintessenz, 8, 1143-1152
- **Merck** Sicherheitsdatenblatt, 1998, CD-Rom Version D-A-CH/2
- **Merzenich H**, Hartwig A, Ahrens W, Beyersmann D, Schlepegrell R, Scholze M, Timm J, Jöckel KH, 2001, Cancer Epiderm Biomark Prevent, 10, 515-522

- **Meyer J**, 2002, Diplomarbeit, Fachbereich Bio- und Geowissenschaften, Universität Essen
- **Meyer U**, Schwenker J, 2002, Gesundheit darf kein Zufall sein, Human Med Verlag, Berlin
- **Michalke KT**, 1999, Dissertation, Fachbereich Bio- und Geowissenschaften, Universität Essen
- **Michalke KT**, Wickenheiser EB, Mehringer M, Hirner AV, Hensel R, 2000, Appl Environ Microbiol, 66, 2791-2796
- **Michaux I**, Haufroid V, Dive A, Buchet JP, Bulpa P, Mathieu P, Installe E, 2000, Clin Toxicol, 38, 471-476
- **Miekeley N**, Mortaris SR, Schubach AO, 2002, Anal Bioanal Chem, 372, 495-502
- **Moens L**, 1997, Fresenius J Anal Chem, 359, 309-316
- **Molin M**, 1990, Swed Dent J Suppl, 71, 1-73
- **Moore MM**, Harrington-Brock K, Doerr CL, 1997, Mut Res, 386, 279-290
- **Morabito R**, Muntau H, Cofino W, Quevauviller P, 1999, J Environ Monit, 1, 75-82
- **Moreno ME**, Munoz R, Perez-Conde C, Camara C, 2000, Intern J Environ Anal Chem, 78, 413-426
- **Musiek FE**, Hanlon DP, 1999, Ear Hearing, 20, 271-275
- **Mutter J**, 2000, Amalgam-Risiko für die Menschheit, Fit fürs Leben Verlag, Weil der Stadt
- **Narahashi T**, Arakawa O, Nakahiro M, 1991, Advances in Mercury Toxicology, Plenum Press, New York, 191-207
- **Narsito J**, Agterdenbos J, Santona SJ, 1990, Anal Chim, Acta, 237, 189-199
- **Newland LW**, 1982, The Handbook of Environmental Chemistry, 3 Part B, Springer Verlag, Berlin
- **Nielsen JB**, Andersen O, 1991, J Trace Elem Electrolytes Health Dis, 5, 245-250
- **Nielsen JB**, Andersen O, Grandjean P, 1994, Arch Toxicol, 68, 317-321
- **Nielsen JB**, Nielsen F, Jorgensen PJ, Grandjean P, 2000, Metal Ions Biol Med, 6, 186-188
- **Nierenberg DW**, Nordgren RE, Chang MB, 1998, N Engl J Med, 338, 1672-1676
- **Okada Y**, Oyama Y, Chikahisa L, Satoh M, Kanemaru K, Sakai H, Noda K, 2000, Toxicol Letters, 117, 123-128
- **Olivas RM**, Quevauviller P, Donard OFX, 1998, Fresenius J Anal Chem, 360, 512-519
- **Otto M**, Analytische Chemie, 1995, VCH Verlag, Weinheim
- **Palacios MA**, Gomez M, Camara C, Lopez MA, 1997, Anal, Chim, Acta, 340, 209-220
- **Pavlat L**, Illek J, Pechova A, 2001, Acta Vet Brno, 70, 19-26
- **Pecheyran C**, Lalere B, Donard OFX, Environ Sci Technol, 34, 27-32
- **Pergantis SA**, Heithmar EM, Hinnert TA, 1997, Analyst, 122, 1063-1068
- **Peters HJ**, 2002, <http://www.Umweltprobenbank-Münster.de>
- **Petrack JS**, Ayala-Fierro F, Cullen WR, Carter DE, Aposhian HV, 2000, Toxicol Appl Pharmacol, 163, 203-207



- **Petrick JS**, Jagadish B, Mash EA, Aposhian HV, 2001, *Chem Res Toxicol*, 14, 651-656
- **Pfeffer O**, 1987, *Arsen und seine Verbindungen*, Merkblatt M008 3/84, Berufsgenossenschaft der Chemischen Industrie, Jedermann Verlag, Heidelberg
- **Pongratz R**, Heumann KG, 1998, *Chemosphere* 36, 1935-1946
- **Pope AM**, Rall DR, 1995, *Mercury Toxicity in Environmental Medicine*, National Academy Press, Washington
- **Potgeter H**, 1998, Dissertation, Fachbereich Chemie, Universität Hamburg
- **Quevauviller P**, Drabaek I, Muntau H, Griepink B, 1994, European Commission, Report EUR 15920 EN, Luxemburg
- **Quevauviller P**, Morabito R, Ebdon L, Cofino W, Muntau H, Campbell MJ, 1997, European Commission, Report EUR 17921 EN, Luxemburg
- **Quijano MA**, Gutierrez AM, Perez-Conde MC, Camara C, 1999, *Talanta*, 50, 165-173
- **Raber G**, Francesconi KA, Irgolic KJ, Goessler W, 2000, *Fresenius J Anal Chem*, 367, 181-188
- **Radovanovic R**, Bojovic P, Cavoski D, Velckovic D, Barac M, 1993, *Fleischwirtschaft*
- **Rapsomanikis S**, Craig PJ, 1991, *Anal Chim Acta* 248, 563-567
- **Redwood L**, Bernard S, Brown D, 2001, *Neuro Toxicol*, 5, 691-697
- **Ribeiro CAO**, Rouleau C, Pelletier E, Tjälve H, 1999, *Environ Sci Technol*, 33, 902-907
- **Rippel R**, 1990, *Mercaptoacetic Acid and Derivatives* in Ullmanns Encyclopedia of Industrial Chemistry, Verlag Chemie, Weinheim
- **Robert G**, Feldman MD, Roberta F, White PD, Ikechukwu I, Eriator MD, 1993, *Arch Neurol*, 50, 1320-1324
- **Roels HA**, Buchet JP, 2001, *J Environ Monit*, 3, 67-73
- **Römp**, 1995, *Lexikon der Chemie*, Thieme Verlag, Stuttgart, 260-265
- **Rosenberg E**, 2001, *Nachr Chem*, 49, 164-168
- **Rosenkranz B**, Bettmer J, Buscher W, Breer C, Cammann K, 1997, *Appl Organomet Chem*, 11, 721-725
- **Ross WD**, Emmett EA, Steiner J, Tureen R, 1981, *Am J Psychiatry*, 138, 1092-1095
- **Rudel R**, Slayton TM, Beck BD, 1996, *Regul Toxicol Pharmacol*, 23, 87-105
- **Sabe R**, Rubio R, Garcia-Beltran L, 2000a, *Anal Chim Acta*, 419, 121-135
- **Sabe R**, Rubio R, Garcia-Beltran L, 2000b, *Metal Ion Biol Med*, 6, 270-272
- **Sakurai T**, Kaise T, Matsubara C, 1998, *Chem Res Toxicol*, 11, 273-283
- **Sandborgh-Englund G**, Elinder CG, Johanson G, Lind B, Skare I, Ekstrand J, 1998, *Toxicol Appl Pharmacol*, 150, 146-153
- **Sanz-Mendel A**, 1998, *Spectrochimica Acta Part B*, 53, 197-221
- **Sarmani SB**, Hassan RB, Abdullah MP, Hamzah A, 1997, *J Radioanal Nucl Chem*, 216, 25-27
- **Schedlbauer OF**, Heumann KG, 1999, *Anal Chem*, 71, 5459-5464

- **Schedlbauer OF**, Heumann KG, 2000, Appl Organomet Chem, 14, 330-340
- **Schiwara HW**, Daunderer M, Kirchherr H, Heß C, Harders B, Hoppe HW, Molsen C, Engler J, Scholze M, Buchterkirche B, Buchterkirche C, 1992, Klin Lab, 38, 391-403
- **Schomburg G**, 1997, Gaschromatographie, Verlag Chemie, Weinheim
- **Schuurs A**, Exterkate R, Cate B, 2000, Eur J Oral Sci, 108, 511-522
- **Seppänen K**, Laatikainen R, Salonen JT, Rantola M, Lötjönen S, Harri M, Nurminen L, Kaikkonen S, Nyyssönen K, 1998, Biolog Trace Elem Res, 65, 197-209
- **Segrgeeva TA**, Palacios MA, Craig PJ, 1997, Quimi Anal, 16, 297-302
- **Siegler RW**, David MD, Nierenberger W, Hickey WF, 1999, Hum Pathology, 30, 720-722
- **Shawky S**, Emons H, Dürbeck HW, 1996, Analyt Comm, 33, 107-110
- **Skare I**, Engqvist A, 1994, Arch Environ Health, 49, 384-390
- **Smith LM**, Craig PJ, Jenkins RO, 2002a, Chemosphere, 401-407
- **Smith LM**, Maher WA, Craig PJ, Jenkins RO, 2002b, Appl Organomet Chem, 16, 287-293
- **Snoeijs NJ**, Penninks H, Seinen W, 1987, Environ Res, 44, 335-353
- **Streit B**, 1991, Lexikon Ökotoxikologie, VCH-Verlag, Weinheim, 534-536
- **Styblo M**, Yamauchi H, Thomas DJ, 1995, Toxicol Appl Pharmacol, 135, 172-178
- **Suner MA**, Devesa V, Clemente MJ, Velez D, Montoro R, Urieta I, Jalon M, Macho ML, 2002, J Agric Food Chem, 50, 924-932
- **Sur R**, Begerow J, Dunemann L, 1999, Fresenius J Anal Chem, 363, 526-530
- **Sur R**, Dunemann L, Begerow J, 2002, Umweltmed Forsch Prax, 7, 153-158
- **Sutton KL**, Heitkemper DT, 2002, Elemental Speciation, Elsevier, Amsterdam
- **Suzuki T**, Miyama T, Katsunuma H, 1963, Jpn J Exp Med, 33, 277-282
- **Suzuki T**, Itho M, Ohmichi M, 1995, J Chromatography B, 666, 13-19
- **Sweet LI**, Zelikoff JT, 2001, J Toxicol Environ Health Part B, 4, 161-205
- **Synowietz C**, Schäfer K, 1984, Chemiker Kalender, 2. Auflage, Springer Verlag, Berlin
- **Taylor HE**, Huff RA, Montaser A, 1998, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, Wiley VCH Verlag, New York
- **Thayer JS**, 1988, Organometallic Chemistry-an Overview, VCH-Verlag, Weinheim
- **Thayer JS**, 1995, Environmental Chemistry of the Heavy Elements, VCH-Verlag, Weinheim
- **Templeton DM**, Ariese F, Cornelius R, Danielsson LG, Muntau H, van Leeuwen HP, Lobinski R, 2000, Pure Appl Chem, 72, 1453-1470
- **Traencker I**, Gottwald B, Kupfer J, Ganss C, Eis D, Schill WB, Gieler U, 2001, Allergologie, 24, 289-299
- **Valentino L**, Torregrossa MV, Saliba LJ, 1995, Wat Sci Tech, 32, 41-47
- **Van Fleet Stadler V**, Chasteen TG, 1998, J Photochem Photobiol B, 43, 193-203
- **Vatner M**, 1988, Biological Monitoring of Toxic Metals, Plenum Press, New York

- **Vather M**, 1994, Clin Chem, 40, 679-680
- **Vahter M**, Couch R, Nermell B, Nilsson R, 1995, Toxicol Appl Pharmacol, 133, 262-268
- **Vather M**, Concha G, 2001, Pharmacol Toxicol, 89, 1-5
- **Veillon C**, Reamer D, 1981, Anal Chem, 53, 549-550
- **Vien SH**, Fry RC, 1988, Anal Chem, 60, 465-472
- **Volz A**, Weaver J, Shooltz D, 2001, Mercury Toxicity in the Human Brain: Knows and Unknowns, Internet: <http://www.cem.msu.edu>
- **von Burg R**, Greenwood MR, 1984, *Quecksilber in Metalle in der Umwelt*, Verlag Chemie, Weinheim
- **Weast RC**, 1998, CRC Handbook of Chemistry and Physics, 69. Auflage, Boca Raton
- **Weiner JA**, Nylander M, 1995, Sci Tot Environ, 168, 255-265
- **White MA**, Sabbioni E, 1998, Sci Tot Environ, 216, 253-270
- **WHO**, 1991, Environmental Criteria, 118, Inorganic Mercury, Geneva 36
- **Wickenheiser EB**, Michalke KT, Hirner AV, Hensel R, Flassbeck D, 2000, Met Ions Biol Med, 6, 120-122
- **Yamanaka K**, Hayashi H, Kato K, Hasegawa A, Okada S, 1995, Biochem Biophys Res Commun, 207, 244-249
- **Yamauchi H**, Kaise T, Yamamura Y, 1986, Bull Environ Contam Toxicol, 36, 350-355
- **Yang KL**, Jiang SJ, 1995, Anal Chim Acta, 307, 109-115
- **Yannai S**, Berdicevsky I, Duek L, 1991, Appl Environ Microbiol, 57, 245-247
- **Yasutake A**, Nakano A, Miyamoto KI, Eto K, 1997, Tohoku J Exp Med, 182, 185-196
- **Yasutake A**, Hirayama K, 2001, Arch Toxicol, 75, 400-406
- **Yoshida K**, Kuroda K, Inoue Y, Chen H, Date Y, Wanibuchi H, Fukushima S, Endo G, 2001, Appl Organomet Chem, 15, 539-547
- **Young JF**, Wosilait WD, Luecke RH, 2001, J Toxicol Environ Health, 62, 19-52
- **Zalups RK**, 2000, Pharmacol Rev, 52, 113-144
- **Zander D**, Ewers U, Freier I, Westerweller S, Jermann E, Brockhaus A, 1990, Zbl Hyg, 190, 325-334
- **Zielhuis RL**, Henderson PT, 1986, Int Arch Occup Health, 57, 249-257
- **Zhang X**, Cornelis R, De Kimpe J, Mees L, Vanderbiesen V, De Cubber A, Vanholder R, 1996, Clin Chem, 42, 1231-1237

	Messung 1 Konz [ng/L]	Messung 2 Konz [ng/L]	Messung 3 Konz [ng/L]	Messung 4 Konz [ng/L]	Messung 5 Konz [ng/L]	Messung 6 Konz [ng/L]	Messung 7 Konz [ng/L]	Messung 8 Konz [ng/L]	Anzahl der Messungen <b>n</b>	Ø [ng/L]	σ	σ [%]
GeH <sub>4</sub>	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,5	0,3	0,4	8	0,3	0,07	23
AsH <sub>3</sub>	42	35	42	37	43	72	38	50	8	50	11,9	24
MeAsH <sub>2</sub>	25	14	32	26	25	22	27	21	8	25	6	24
Me <sub>2</sub> AsH	60	101	94	178	148	126	169	149	8	128	41	31
Me <sub>3</sub> As	0,6	0,4	0,4	0,7	0,5	0,8	0,6	0,7	8	0,6	0,1	17
Me <sub>2</sub> Se <sub>2</sub>	< 0,2	< 0,2	0,3	0,5	0,5	0,6	< 0,2	0,5	8	0,4	0,2	50
SnH <sub>4</sub>	1144	1098	1164	1276	1350	1316	1259	1496	8	1263	129	10
MeSnH <sub>3</sub>	0,7	0,5	0,5	1	1	1	1	0,8	8	0,8	0,2	25
Me <sub>3</sub> SnH	0,8	0,4	0,5	1	0,6	0,9	0,7	0,9	8	0,7	0,2	29
BuSnH <sub>3</sub>	1	1	1	1	1	1	1	1	8	1	0	0
MeHgH	0,6	0,6	0,5	0,9	1	0,6	1	0,9	8	0,8	0,2	25

σ = Standardabweichung

Ø = Mittelwert

Tabelle A1 Ermittlung der Standardabweichung durch achtmaliges Analysieren einer Urinprobe

Proben Spezies	F4541 [ngX/L]	F26117 [ngX/L]	F4571 [ngX/L]	F26062 [ngX/L]	F26185 [ngX/L]	F1657 [ngX/L]	F25276 [ngX/L]	F25012 [ngX/L]	F25268 [ngX/L]	F26087 [ngX/L]	F25038 [ngX/L]	F26151 [ngX/L]	F26021 [ngX/L]	F26078 [ngX/L]	F25175 [ngX/L]	F4503 [ngX/L]	F4524 [ngX/L]	F25416 [ngX/L]
GeH <sub>4</sub>	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	1	< 0,15	< 0,15
AsH <sub>3</sub>	11	6	10	13	2	5	4	6	12	7	9	5	8	10	n.a.	n.a.	9	24
MeAsH <sub>2</sub>	8	7	22	31	4	9	12	47	22	14	15	16	24	23	n.a.	n.a.	33	72
Me <sub>2</sub> AsH	22	616	15	108	62	28	23	225	84	55	33	14	21	1045	n.a.	n.a.	20	95
Me <sub>3</sub> As	< 0,05	3	< 0,05	< 0,05	0,1	< 0,05	0,1	2	< 0,05	< 0,05	0,4	< 0,05	< 0,05	< 0,05	n.a.	n.a.	< 0,05	0,3
PhAsH <sub>2</sub>	< 0,05	13	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	14	n.a.	n.a.	< 0,05	< 0,05
As <sup>?</sup> <sub>ges</sub>	6	468	21	47	6	3	37	39	14	17	25	12	10	194	n.a.	n.a.	55	61
SeH <sub>2</sub>	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	9	n.a.	< 0,15	< 0,15
MeSeH	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	4	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15
Me <sub>2</sub> SSe	< 0,15	< 0,15	< 0,15	12	< 0,15	< 0,15	< 0,15	3	12	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	9	< 0,15	n.a.	16	13
Me <sub>2</sub> Se <sub>2</sub>	3	6	2	4	4	6	12	8	5	22	15	6	10	7	< 0,15	n.a.	5	19
Se <sup>?</sup> <sub>ges</sub>	3	9	3	< 0,15	3	4	13	< 0,15	< 0,15	24	8	< 0,15	6	11	< 0,15	n.a.	3	< 0,15
SnH <sub>4</sub>	378	188	7	789	453	8	115	66	749	256	281	100	888	121	438	3697	288	758
MeSnH <sub>3</sub>	4	2	1	2	2	2	2	0,2	6	1	8	1	3	1	9	14	< 0,05	6
Me <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub>	< 0,05	< 0,05	< 0,05	3	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	1	0,2	6	2	< 0,05	1	2	1	< 0,05	< 0,05
Me <sub>3</sub> SnH	< 0,05	< 0,05	< 0,05	1	< 0,05	< 0,05	< 0,05	0,1	< 0,05	1	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	19	< 0,05
BuSnH <sub>3</sub>	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	133	< 0,05	< 0,05	< 0,05	64	649	2	< 0,05
SbH <sub>3</sub>	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	263	< 0,03
MeSbH <sub>2</sub>	0,3	1	1	2	0,4	< 0,03	0,2	0,3	1	1	1	2	4	1	14	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Me <sub>2</sub> SbH	< 0,03	< 0,03	< 0,03	2	0,6	< 0,03	< 0,03	< 0,03	1	1	< 0,03	0,2	2	1	1	< 0,03	< 0,03	0,4
Hg <sup>0</sup>	< 0,03	< 0,03	< 0,03	0,4	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	15
MeHgH	0,3	3	< 0,03	0,6	0,4	< 0,03	0,2	0,8	1	< 0,03	< 0,03	6	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Me <sub>2</sub> Hg	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	7
MeEtHg <sup>?</sup>	< 0,03	2	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	2	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Et <sub>2</sub> Hg <sup>?</sup>	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	2	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Hg <sup>?</sup> <sub>ges</sub>	< 0,03	1	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Me <sub>4</sub> Pb	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
MeBiH <sub>2</sub>	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	0,1	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03

X=Element, n.a. = Element nicht auswertbar

Tabelle A2 Metall- und metalloiddorganische Verbindungen in Urinproben von Frauen der Querschnittsstudie der Bremer Bevölkerung

Proben Spezies	M1500 [ngX/L]	M4543 [ngX/L]	M1488 [ngX/L]	M1797 [ngX/L]	M25206 [ngX/L]	M4522 [ngX/L]	M1477 [ngX/L]	M26007 [ngX/L]	M25001 [ngX/L]	M1606 [ngX/L]	M25261 [ngX/L]	M26071 [ngX/L]	M25127 [ngX/L]	M26061 [ngX/L]	M1658 [ngX/L]	M25283 [ngX/L]
Me <sub>2</sub> GeH <sub>2</sub>	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	1	< 0,15
AsH <sub>3</sub>	5	44	9	185	25	9	< 0,05	4	7	12	12	< 0,05	< 0,05	14	4	235
MeAsH <sub>2</sub>	35	79	26	41	17	46	13	18	40	31	47	19	18	22	58	114
Me <sub>2</sub> AsH	215	832	35	204	146	28	22	21	111	141	326	13	1112	238	124	< 0,05
Me <sub>3</sub> As	4	4	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	1	< 0,05	< 0,05	< 0,05	3	1	4	1	< 0,05	< 0,05
PhAsH <sub>2</sub>	6	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	4	< 0,05	6	< 0,05	56	< 0,05	3	16
As <sup>?</sup> <sub>ges</sub>	174	511	36	198	50	508	10	22	65	66	143	15	226	120	106	410
SeH <sub>2</sub>	< 0,15	< 0,15	2	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15
MeSeH	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	37	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	2	< 0,15	3	< 0,15	1	< 0,15
Me <sub>2</sub> SSe	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	14	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	12	< 0,15	14	22
Me <sub>2</sub> Se <sub>2</sub>	5	26	9	5	14	59	6	< 0,15	15	19	13	11	14	7	8	19
Se <sup>?</sup> <sub>ges</sub>	4	15	5	< 0,15	6	106	6	4	14	12	12	8	17	3	< 0,15	< 0,15
SnH <sub>4</sub>	1652	890	17	1188	135	101	18	1474	207	59	242	67	< 0,05	287	371	563
MeSnH <sub>3</sub>	12	4	< 0,15	4	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	9	3
Me <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub>	< 0,05	1,1	< 0,05	8	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	2	20	< 0,05	2	< 0,05	1	< 0,05
Me <sub>3</sub> SnH	< 0,05	1,1	< 0,05	< 0,05	1	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	1	< 0,05	0,4	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Me <sub>4</sub> Sn	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	7	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	1	< 0,05
BuSnH <sub>3</sub>	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	57,3	< 0,05
Sn <sup>?</sup> <sub>ges</sub>	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	1	1	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
SbH <sub>3</sub>	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	728	< 0,03
MeSbH <sub>2</sub>	1	2	1	2	1	1	1	< 0,03	0,4	2	1	0,4	1	1	2	< 0,03
Me <sub>2</sub> SbH	1	3	1	2	1	< 0,03	0,3	< 0,03	< 0,03	1	< 0,03	< 0,03	0,3	1	< 0,03	< 0,03
I <sup>?</sup> <sub>ges</sub>	< 0,08	< 0,08	< 0,08	< 0,08	< 0,08	< 0,08	< 0,08	< 0,08	< 0,08	< 0,08	< 0,08	< 0,08	< 0,08	< 0,08	0,4	< 0,08
Hg <sup>0</sup>	2	1	1	2	3	1	1	2	1	< 0,03	0,3	< 0,03	2	< 0,03	0,4	2
MeHgH	< 0,03	2	< 0,03	1	1	< 0,03	< 0,03	< 0,03	1	1	1	< 0,03	2	< 0,03	0,1	< 0,03
Me <sub>2</sub> Hg	< 0,03	0,4	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
MeEtHg?	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	0,2
Et <sub>2</sub> Hg?	< 0,03	< 0,03	< 0,03	2	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Hg <sup>?</sup> <sub>ges</sub>	3	1	< 0,03	2	0,3	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	1	0,1	0,3
Me <sub>4</sub> Pb	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
MeBiH <sub>2</sub>	< 0,03	< 0,03	< 0,03	1	2	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	1	< 0,03	< 0,03

Tabelle A3 Metall- und metalloideorganische Verbindungen in Urinproben von Männern der Querschnittsstudie der Bremer Bevölkerung

	WA26188 [ngX/L]	WA26035 [ngX/L]	WA25228 [ngX/L]	WA26064 [ngX/L]	WA25182 [ngX/L]	WA25075 [ngX/L]
Me <sub>3</sub> GeH	< 0,15	< 0,15	< 0,15	1	< 0,15	< 0,15
AsH <sub>3</sub>	10	18	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
MeAsH <sub>2</sub>	12	73	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Me <sub>2</sub> AsH	134	237	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Me <sub>3</sub> As	< 0,05	< 0,05	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
PhAsH <sub>2</sub>	< 0,05	3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
As <sup>?</sup> <sub>ges</sub>	16	55	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
SeH <sub>2</sub>	< 0,15	< 0,15	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
MeSeH	< 0,15	2	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Me <sub>2</sub> SSe	4	14	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Me <sub>2</sub> Se <sub>2</sub>	1	4	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
SnH <sub>4</sub>	38	198	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
SbH <sub>3</sub>	< 0,03	< 0,03	< 0,03	82	1688	n.a.
Me <sub>2</sub> SbH	0,2	1	< 0,03	< 0,03	< 0,03	n.a.
Me <sub>3</sub> Sb	< 0,03	< 0,03	0,3	< 0,03	< 0,03	n.a.
MeHgH	0,1	0,1	< 0,03	< 0,03	< 0,03	n.a.
MeEtHg?	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	0,1	n.a.
Et <sub>2</sub> Hg?	< 0,03	< 0,03	< 0,03	0,1	< 0,03	n.a.
MeBiH <sub>2</sub>	2	1	< 0,03	< 0,03	< 0,03	n.a.

Tabelle A4 Metall- und metalloideorganische Verbindungen in Urinproben von Werftarbeitern der Querschnittsstudie der Bremer Bevölkerung

	Ge <sup>73</sup> [µg/L]	As <sup>75</sup> [µg/L]	Se <sup>77</sup> [µg/L]	Sn <sup>120</sup> [µg/L]	Sb <sup>121</sup> [µg/L]	Hg <sup>202</sup> [µg/L]	Bi <sup>209</sup> [µg/L]
F 1657	2	45	25	2	< 0,1	3	1
F25012	2	50	16	1	< 0,1	< 0,1	1
F25038	3	25	71	5	< 0,1	1	1
F 25268	2	48	59	9	< 0,1	1	1
F 25276	2	25	27	2	< 0,1	< 0	1
F 26021	3	38	81	16	< 0,1	2	1
F 26062	2	101	96	11	< 0,1	7	1
F 26078	3	301	57	2	< 0,1	3	1
F 26087	2	27	33	2	< 0,1	1	1
F 26117	2	263	37	1	< 0,1	<0,1	1
F 26151	2	24	37	2	< 0,1	3	1
F 26185	2	12	7	3	< 0,1	< 0,1	1
F 4541	2	16	18	4	< 0,1	< 0,1	1
F4571	2	13	11	1	< 0,1	< 0,1	1
M1477	3	16	44	1	< 0,1	< 0,1	1
M1488	2	48	35	1	< 0,1	1	1
M 1500	2	1068	39	8	< 0,1	1	2
M 1606	2	28	28	1	< 0,1	< 0,1	1
M 1797	3	103	34	7	< 0,1	2	1
M 25001	3	144	39	3	< 0,1	< 0,1	1
M 25127	4	110	37	1	< 0,1	1	1
M25206	3	84	93	3	< 0,1	5	1
M 25261	2	214	66	2	< 0,1	< 0,1	1
M26061	2	646	46	2	< 0,1	< 0,1	1
M 26007	2	23	50	9	< 0,1	1	1
M 26071	2	16	38	2	< 0,1	< 0,1	1
M 4522	3	143	201	2	< 0,1	< 0,1	1
M4543	12	549	57	4	< 0,1	< 0,1	1
WA 26035	3	106	79	2	< 0,1	1	1
WA 26188	3	140	77	3	< 0,1	1	1

TabelleA5 Gesamtkonzentrationsbestimmung der in den Urinproben vorliegenden  
Elemente der Querschnittsstudie der Bremer Bevölkerung



Proband	F4541	F26117	F4571	F26062	F26185	F1657	F25276	F25012	F25268	F26087
Proteingehalt [mg/dL]	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	<b>0,3</b>
Proband	F25175	F4524	F25416	F26021	F26078	F25038	F26151	F4503	M4522	M1477
Proteingehalt [mg/dL]	n.d.	n.d.	n.d.	<b>0,3</b>	<b>0,3</b>	<b>0,3</b>	negativ	n.d.	negativ	negativ
Proband	M25001	M26061	M25127	M1658	M25283	M1606	M25261	M26071	M4543	M26007
Proteingehalt [mg/dL]	negativ	negativ	<b>0,3</b>	n.d.	n.d.	negativ	negativ	negativ	<b>0,3</b>	negativ
Proband	M1488	M1797	M25206	M1500	WA25228	WA26064	WA25182	WA25075	WA26188	WA26035
Proteingehalt [mg/dL]	negativ	negativ	<b>0,3</b>	negativ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	negativ	<b>0,3</b>

n.d. = nicht durchführbar, da Urinmenge nicht ausreichend

Tabelle A6

Ergebnisse der Proteinanalysen der Urine der Querschnittsstudie der Bremer Bevölkerung

Spezies	AsH <sub>3</sub>	MeAsH <sub>2</sub>	Me <sub>2</sub> Se <sub>2</sub>	SnH <sub>4</sub>	MeSbH <sub>2</sub>	Me <sub>2</sub> SbH
AsH <sub>3</sub>		r = 0,48	r = 0,22	r = 0,33	r = 0,28	r = 0,38
MeAsH <sub>2</sub>			r = 0,37	r = 0,3	r = 0,24	r = 0,15
Me <sub>2</sub> Se <sub>2</sub>				r = 0,21	r = 0,06	r = 0,01
SnH <sub>4</sub>					r = 0,06	r = 0,28
MeSbH <sub>2</sub>						r = 0,69
Me <sub>2</sub> SbH						

Tabelle A7 Spearman Korrelationskoeffizienten für die in der Querschnittsstudie der Bremer Bevölkerung nachgewiesenen metall- und metalloorganischen Verbindungen

Urin Spezies	Konz [ng/L]	Konz [ng/L]	Konz [ng/L]	Konz [ng/L]	Konz [ng/L]	Konz ng/L]	Konz [ng/L]	Konz [ng/L]	Konz [ng/L]
GeH <sub>4</sub>	31	1	9	0,3	1	11	0,3	5	0,3
MeGeH <sub>3</sub>	1	0,4	< 0,15	0,1	< 0,15	< 0,15	0,2	< 0,15	0,2
Me <sub>2</sub> GeH <sub>2</sub>	1	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15
AsH <sub>3</sub>	112	72	111	42	45	115	37	88	43
MeAsH <sub>2</sub>	82	22	98	25	26	44	26	150	25
Me <sub>2</sub> AsH	469	126	545	60	68	398	178	697	148
Me <sub>3</sub> As	< 0,05	1	< 0,05	1	0,2	< 0,05	0,7	1	1
TMDA	< 0,05	< 0,05	13	25	10	2	11	12	7
Me <sub>2</sub> SSe	1	< 0,15	5	< 0,15	< 0,15	3	< 0,15	< 0,15	< 0,15
Me <sub>2</sub> Se <sub>2</sub>	2	1	2	< 0,15	1	1	1	< 0,15	0,5
SnH <sub>4</sub>	1899	1316	3924	1144	1241	1655	1276	1708	1350
MeSnH <sub>3</sub>	16	1	24	1	2	9	1	18	1
Me <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub>	44	< 0,05	51	< 0,05	12	16	< 0,05	23	< 0,05
Me <sub>3</sub> SnH	13	1	14	1	1	4	1	9	1
BuSnH <sub>3</sub>	247	1	140	< 0,05	2	252	< 0,05	146	< 0,05
Hg <sup>0</sup>	13	< 0,03	2	< 0,03	< 0,03	7	0,1	< 0,03	0,1
MeHgH	4	1	< 0,03	1	1	1	1	4	1

Tabelle A8 „Biological Monitoring“ des Urins eines Probanden über einen Zeitraum von zweieinhalb Jahren

Konz [ng/L] Spezies	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag	12. Tag	14. Tag	Blank
GeH <sub>4</sub>	49	13	11	10	17	7	7	16	17	7	11	0,3
MeGeH <sub>3</sub>	1	1	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15
Me <sub>2</sub> GeH <sub>2</sub>	< 0,15	1	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15	< 0,15
AsH <sub>3</sub>	135	90	124	106	185	143	156	104	118	110	112	37
MeAsH <sub>2</sub>	78	86	88	707	170	128	132	156	154	102	95	25
Me <sub>2</sub> AsH	552	385	407	< 0,05	690	332	361	400	206	557	534	180
Me <sub>3</sub> As	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	1	< 0,05	1
TMDA	0,1	< 0,05	< 0,05	4	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	6,0	19	< 0,05
Et <sub>3</sub> As	16	< 0,05	145	< 0,05	< 0,05	66	48	56	65	13	< 0,05	< 0,05
As? RT =16 min	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	2	5	< 0,05	< 0,05	< 0,05
As? RT =17 min	2	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Me <sub>2</sub> SSe	3	< 0,15	0,1	5	5	8	4	4	6,2	4	6	0,4
Me <sub>2</sub> Se <sub>2</sub>	5	< 0,15	4	5	5	4	4	11	10,2	2	1	0,3
SnH <sub>4</sub>	1593	2204	1808	1501	2067	5325	5326	4774	3834	3596	4252	1260
MeSnH <sub>3</sub>	18	13	10	8	21	181	22	35	31	20	28	1,3
Me <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub>	51	38	15	17	33	19	20	37	17	54	47	< 0,05
Me <sub>3</sub> SnH	15	11	5	4	7	10	11	23	12	12	16	1
BuSnH <sub>3</sub>	285	209	199	305	410	19	43	142	11	138	142	1
Bu <sub>3</sub> SnH	< 0,05	< 0,05	< 0,05	0,4	< 0,05	15	12	42	25	< 0,05	< 0,05	< 0,05
SbH <sub>3</sub>	1564	5659	335	709	9821	9682	8027	9581	8354	9156	9019	< 0,03
MeSbH <sub>2</sub>	1	< 0,03	< 0,03	1	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Me <sub>2</sub> SbH	2	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Me <sub>3</sub> Sb	2	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Hg <sup>0</sup>	14	4	26	44	38	33	57	111	71	26	23	< 0,03
Hg? RT=4,1min	12	4	0,3	< 0,03	< 0,03	< 0,03	26	< 0,03	62	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Hg? Rt=5,2 min	6	< 0,03	6	17	< 0,03	23	< 0,03	12	< 0,03	19	6	< 0,03
MeHgH	3	6	3	< 0,03	< 0,03	9	< 0,03	< 0,03	< 0,03	10	6	1
Me <sub>2</sub> Hg	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	24	< 0,03	< 0,03	< 0,03

Tabelle A9 Nachgewiesene metall(oid)organische Verbindungen im Urin bei gleichzeitiger Einnahme des Schwermetallbinders *Asparagus P*

Spezies \	Blank I [ng/kg]	2. Tag [ng/kg]	4. Tag [ng/kg]	6. Tag [ng/kg]	9. Tag [ng/kg]	12.Tag [ng/kg]	15. Tag [ng/kg]	18. Tag [ng/kg]	21. Tag [ng/kg]	24. Tag [ng/kg]	27. Tag [ng/kg]	30. Tag [ng/kg]	Blank II [ng/kg]
GeH <sub>4</sub>	4	30	33	33	78	173	82	110	12	< 0,4	2	< 0,4	< 0,4
AsH <sub>3</sub>	191	110	299	227	364	205	202	336	272	180	200	112	99
MeAsH <sub>2</sub>	30	138	37	23	1	2	11	16	24	25	26	40	3
Me <sub>2</sub> AsH	10	< 0,14	45	46	11	92	8	9	25	23	4	8	9
Me <sub>3</sub> As	< 0,14	24	4	7	3	29	< 0,14	< 0,14	< 0,14	3	< 0,14	< 0,14	< 0,14
Me <sub>4</sub> As <sub>2</sub>	2	2	23	14	10	1	12	13	3	< 0,14	2	3	2
SnH <sub>4</sub>	15.258	96.295	43.048	42.867	30.292	29.794	24.012	26.718	45.313	61.322	32.598	25.437	20.328
MeSnH <sub>3</sub>	756	39	382	347	305	207	383	46	1.912	1.710	214	297	151
Me <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub>	577	134	696	757	932	253	933	1.300	287	288	987	45	57
Me <sub>3</sub> SnH	< 0,14	< 0,14	4	7	17	807	3	< 0,14	41	111	4	10	< 0,14
BuSnH <sub>3</sub>	1.490	1.471	3.156	2.317	2.779	2.607	1.473	1.423	553	675	650	678	452
MeSbH <sub>2</sub>	133	< 0,07	< 0,07	< 0,07	2	< 0,07	3	< 0,07	< 0,07	2	2	5	2
Me <sub>2</sub> SbH	7	1	10	2	2	3	3	9	3	5	< 0,07	< 0,07	< 0,07
Me <sub>3</sub> Sb	< 0,07	1	7	2	2	2	16	2	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07
EtSbH <sub>2</sub>	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	10	2	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07
Hg <sup>0</sup>	57	3.494	3.356	5.120	1.741	4.399	1.195	1.429	188	106	33	28	7
MeHgH	< 0,07	< 0,07	< 0,07	371	< 0,07	< 0,07	82	110	126	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07
Me <sub>2</sub> Hg	< 0,07	116	< 0,07	9.632	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07
EtMeHg	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	1.695	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07
MeBiH <sub>2</sub>	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	42	4	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07
Me <sub>2</sub> BiH	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	15	2	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07
Me <sub>3</sub> Bi	8	4	2	12	11	7	< 0,07	< 0,07	9	8	12	17	2

Tabelle A 10 Nachgewiesene metall- und metalloorganische Verbindungen in Stuhlproben bei gleichzeitiger Einnahme der Alge *Chlorella pyrenoidosa*

Konzentration Spezies	Proband I Pr I [ng/m <sup>3</sup> ]	Proband I Pr II [ng/m <sup>3</sup> ]	Proband I Pr III [ng/m <sup>3</sup> ]	Proband I Pr IV [ng/m <sup>3</sup> ]	Proband I Pr V [ng/m <sup>3</sup> ]	Proband II Pr I [ng/m <sup>3</sup> ]	Proband II Pr II [ng/m <sup>3</sup> ]	Proband II Pr III [ng/m <sup>3</sup> ]	Proband II Pr IV [ng/m <sup>3</sup> ]	Proband II Pr V [ng/m <sup>3</sup> ]	Proband III «Blank» [ng/m <sup>3</sup> ]
AsH <sub>3</sub>	4	12	6	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	2	5	< 0,02	< 0,02
Me <sub>2</sub> AsH	10	32	41	2	< 0,02	2	196	34	174	36	1
Me <sub>2</sub> Se	105	75	152	15	< 0,06	67	710	455	636	271	76
MeI	5	< 0,03	9	0,5	< 0,03	1	5	5	11	9	< 0,03
Hg <sup>0</sup>	2	< 0,01	14	15	13	< 0,01	0,1	77	3	4	< 0,01
MeBiH <sub>2</sub>	12	28	33	7	< 0,01	23	49	15	28	77	34

Tabelle A11 Nachgewiesene Konzentrationen metall- und metalloideorganischer Verbindungen in Atemproben von drei Probanden

Spezies	GeH <sub>4</sub>	Me <sub>2</sub> GeH <sub>2</sub>	AsH <sub>3</sub>	SnH <sub>4</sub>	MeSnH <sub>3</sub>	Me <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub>
Gehalt in einem Tropfen [ng]	0,004	0,005	0,08	1,3	0,03	0,05
Konzentration [ng/L]	75	104	1676	25.438	519	914
Spezies	Me <sub>3</sub> SnH	BuSnH <sub>3</sub>	SbH <sub>3</sub>	MeI	Hg <sup>0</sup>	BiH <sub>3</sub>
Gehalt in einem Tropfen [ng]	0,002	0,12	1	0,005	0,009	0,018
Konzentration [ng/L]	32	12.306	19.610	102	183	363

Tabelle A12 Nachgewiesene metall- und metalloorganische Verbindungen im  
Entschäumer *Antifoam* 289 der Firma Sigma Aldrich

	EDTA-Blut Plasma [ng/L]	Fluorid-Blut Plasma [ng/L]	Citrat-Blut Plasma [ng/L]	Serum [ng/L]
GeH <sub>4</sub>	21	< 0,04	< 0,04	< 0,04
MeGeH <sub>3</sub>	96	< 0,04	< 0,04	< 0,04
AsH <sub>3</sub>	47	2	12	16
MeAsH <sub>2</sub>	2	1	2	1
Me <sub>2</sub> AsH	2	1	< 0,02	1
SnH <sub>4</sub>	4.334	128	603	7.460
MeSnH <sub>3</sub>	114	< 0,02	8	< 0,02
Me <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub>	155	1	14	206
Me <sub>3</sub> SnH	3	0,3	1	11
Me <sub>4</sub> Sn	14	< 0,02	< 0,02	81
BuSnH <sub>3</sub>	9.251	< 0,02	< 0,02	< 0,02
SbH <sub>3</sub>	<0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
BiH <sub>3</sub>	229	51	< 0,01	12
Me <sub>3</sub> Bi	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Tabelle A13 Nachgewiesene metall- und metalloorganische Verbindungen in Plasma- und Serumproben



<b>Kation</b>	<b>Mg<sup>2+</sup></b>	<b>Ca<sup>2+</sup></b>	<b>Bi<sup>3+</sup></b>	<b>Fe<sup>2+</sup></b>	<b>Fe<sup>3+</sup></b>
Stabilitätskonstante	8,69	10,69	22,8	14,33	25,1
<b>Kation</b>	<b>Pb<sup>2+</sup></b>	<b>Ni<sup>2+</sup></b>	<b>Ag<sup>+</sup></b>	<b>Cu<sup>2+</sup></b>	<b>Zn<sup>2+</sup></b>
Stabilitätskonstante	18,04	18,62	7,2	18,8	16,5
<b>Kation</b>	<b>Hg<sup>2+</sup></b>	<b>Al<sup>3+</sup></b>	<b>Cr<sup>3+</sup></b>	<b>Cd<sup>2+</sup></b>	<b>Mn<sup>2+</sup></b>
Stabilitätskonstante	21,8	16,13	23,1	16,46	14,04

Tabelle A14 Stabilitätskonstanten einiger EDTA-Komplexe bei 20 °C [Otto 1995]

Blutserum	ohne Additive	addiert TMAO (50 ng As/L)	addiert TMAO (75 ng As/L)	addiert TMAO (100 ng As/L)
AsH <sub>3</sub>	214	89	884	722
MeAsH <sub>2</sub>	1	0,005	0,004	0,012
Me <sub>2</sub> AsH	< 0,03	0,4	0,03	0,05
Me <sub>3</sub> As	< 0,03	0,5	0,02	0,02
[ng As/L]				
Blutserum	ohne Additive	addiert Et <sub>3</sub> SnCl (100 ng Sn/L)	addiert Et <sub>3</sub> SnCl (150 ng Sn/L)	addiert Et <sub>3</sub> SnCl (200 ng Sn/L)
SnH <sub>4</sub>	441	1566	568	482
MeSnH <sub>3</sub>	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Me <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub>	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Me <sub>3</sub> SnH	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
BuSnH <sub>3</sub>	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Et <sub>3</sub> SnH	< 0,03	52	29	13
[ng Sn/L]				
Blutserum	ohne Additive	addiert Me <sub>3</sub> SbCl <sub>2</sub> (50 ng Sb/L)	addiert Me <sub>3</sub> SbCl <sub>2</sub> (75 ng Sb/L)	addiert Me <sub>3</sub> SbCl <sub>2</sub> (100 ng Sb/L)
SbH <sub>3</sub>	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
MeSbH <sub>2</sub>	< 0,03	0,01	0,008	0,01
Me <sub>2</sub> SbH	< 0,03	0,01	0,006	0,006
Me <sub>3</sub> Sb	< 0,03	0,002	0,008	0,002
EtSbH <sub>2</sub>	< 0,03	0,02	< 0,03	0,002
[ng Sb/L]				
Hg <sup>0</sup> [ng Hg/L]	< 0,02	30	11	< 0,02
MeHgH [ng Hg/L]	1	9	13	14
BiH <sub>3</sub> [ng Bi/L]	< 0,02	36	27	30

Tabelle A15 Nachgewiesene metall- und metalloorganische Verbindungen in Blutserumproben eines unbelasteten Probanden nach Zugabe von Et<sub>3</sub>SnCl, Me<sub>3</sub>SbCl<sub>2</sub> und TMAO

	Urin vorher	Urin 1.Tag	Urin 2.Tag	Urin 3.Tag	Urin 4.Tag	Urin 5.Tag	Stuhl vorher	Stuhl 1. Tag	Stuhl 2. Tag	Stuhl 3. Tag	Stuhl 4. Tag	Stuhl 5. Tag
	[ng/L]	[ng/L]	[ng/L]	[ng/L]	[ng/L]	[ng/L]	[ng/kg]	[ng/kg]	[ng/kg]	[ng/kg]	[ng/kg]	[ng/kg]
AsH <sub>3</sub>	115	50	42	130	175	192	190	311	432	1.006	534	352
MeAsH <sub>2</sub>	398	50	49	81	86	82	30	31	22	18	21	22
Me <sub>2</sub> AsH	44	354	337	379	264	305	10	32	8	53	25	40
Me <sub>3</sub> As	< 0,05	2	1	< 0,05	5	< 0,05	< 0,14	< 0,14	< 0,14	1	< 0,14	< 0,14
Me <sub>2</sub> SSe	3	2	4	5	4	2	< 0,04	< 0,04	< 0,04	< 0,04	< 0,04	< 0,04
Me <sub>2</sub> Se <sub>2</sub>	1	6	3	3	3	1	< 0,04	< 0,04	< 0,04	< 0,04	< 0,04	< 0,04
SnH <sub>4</sub>	1.655	3.272	3.397	2.218	2.147	2.208	14.285	51.470	65.754	87.847	61.446	96.762
MeSnH <sub>3</sub>	9	32	21	17	14	16	750	809	967	1.326	1.093	1.173
Me <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub>	16	34	23	20	13	18	57	154	144	180	116	146
Me <sub>3</sub> SnH	4	10	29	4	3	5	< 0,14	< 0,14	167	100	53	< 0,14
BuSnH <sub>3</sub>	252	175	69	224	112	113	1.490	12.674	11.186	10.283	9.689	2.467
SbH <sub>3</sub>	< 0,03	5.448	10.479	192	< 0,03	< 0,03	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07
MeSbH <sub>2</sub>	< 0,03	< 0,03	1	< 0,03	< 0,03	< 0,03	1	10	2	2	2	1
Me <sub>2</sub> SbH	< 0,03	< 0,03	1	< 0,03	< 0,03	< 0,03	6	5	1	1	< 0,07	1
Me <sub>3</sub> Sb	< 0,03	5	3	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,07	3	2	< 0,07	< 0,07	< 0,07
MeBiH <sub>2</sub>	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,07	< 0,07	< 0,07	2	< 0,07	< 0,07
Me <sub>2</sub> BiH	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,07	< 0,07	1	< 0,07	< 0,07	< 0,07
Me <sub>3</sub> Bi	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	1	1	8	9	15	< 0,07	< 0,07	5

Tabelle A16 Nachgewiesene metall- und metalloorganische Verbindungen in Urin- und Stuhlproben nach Entfernung von vier Amalgamfüllungen bei gleichzeitiger Einnahme der Alge *Chlorella pyrenoidosa*

<b>Proband I</b>	vorher 8.00 Uhr [ng/mL]	12.20 Uhr Menge: 170 mL [ng/mL]	14.00 Uhr Menge: 230 mL [ng/mL]	15.10 Uhr Menge: 300 mL [ng/mL]	16.40 Uhr Menge: 230 mL [ng/mL]
As <sup>75</sup>	34	78	120	47	53
Se <sup>77</sup>	86	75	50	16	13
Sb <sup>121</sup>	2	2	2	2	2
Hg <sup>202</sup>	9	3	2	3	5
Bi <sup>209</sup>	6	3416	1110	403	440
<b>Proband II</b>	vorher 8.00 Uhr [ng/mL]	12.00 Uhr Menge: 230 mL [ng/mL]	15.38 Uhr Menge: 300 mL [ng/mL]	18.00 Uhr Menge: 410 mL [ng/mL]	23.00 Uhr Menge*: 310 mL [ng/mL]
As <sup>75</sup>	12	28	217	81	110
Se <sup>77</sup>	51	40	76	53	65
Sb <sup>121</sup>	2	2	2	2	2
Hg <sup>202</sup>	0,2	1	1	1	2
Bi <sup>209</sup>	5	260	405	180	189
<b>Proband III</b>	vorher 8.00 Uhr [ng/mL]	11.10 Uhr Menge 260 mL [ng/mL]	12.40 Uhr Menge 280 mL [ng/mL]	14.15 Uhr Menge 250 mL [ng/mL]	16.05 Uhr Menge 340 mL [ng/mL]
As <sup>75</sup>	14	11	70	151	74
Se <sup>77</sup>	56	37	57	67	40
Sb <sup>121</sup>	2	2	2	2	2
Hg <sup>202</sup>	1	1	1	3	2
Bi <sup>209</sup>	5	40	145	207	129

\*diese Menge wurde als Durchschnitt aus den vorherigen Urinmengen dieses Probanden berechnet, da keine Mengenangaben vorhanden waren

Tabelle A17 Gesamtgehalte in Urinproben von drei Probanden vor und nach Verzehr einer metall- und metalloidhaltigen Mahlzeit

<b>Proband I</b>	<b>vorher 8.00 Uhr [ng/L]</b>	<b>12.20 Uhr 170 mL [ng/L]</b>	<b>14.00 Uhr 230 mL [ng/L]</b>	<b>15.10Uhr 300 mL [ng/L]</b>	<b>16.40 Uhr 230 mL [ng/L]</b>
MeAsH <sub>2</sub>	< 0,05	62	132	60	4
Me <sub>2</sub> AsH	2282	2274	6313	3412	2252
Me <sub>3</sub> As	< 0,05	23	93	< 0,05	< 0,05
Hg <sup>0</sup>	11	17	133	45	19
MeHgH	5	< 0,03	49	< 0,03	5
BiH <sub>3</sub>	< 0,03	2183	50893	24873	1795
MeBiH <sub>2</sub>	1	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Me <sub>3</sub> Bi	< 0,03	< 0,03	n.n.	positiv	< 0,03
<b>Proband II</b>	<b>vorher 8.00 Uhr [ng/L]</b>	<b>12.00 Uhr 230 mL [ng/L]</b>	<b>15.38 Uhr 300 mL [ng/L]</b>	<b>18.00Uhr 410 mL [ng/L]</b>	<b>23.00 Uhr 310 mL [ng/L]</b>
MeAsH <sub>2</sub>	404	59	102	0,1	125
Me <sub>2</sub> AsH	2590	379	2853	2001	3053
Me <sub>3</sub> As	n.n.	< 0,05	29	< 0,05	< 0,05
Hg <sup>0</sup>	< 0,03	7	27	30	8
MeHgH	< 0,03	2	4	14	4
BiH <sub>3</sub>	< 0,03	702	4561	5142	532
MeBiH <sub>2</sub>	< 0,03	< 0,03	< 0,03	12	< 0,03
Me <sub>2</sub> BiH	< 0,03	< 0,03	< 0,03	21	< 0,03
Me <sub>3</sub> Bi	n.n.	< 0,03	< 0,03	< 0,03	n.n.
<b>Proband III</b>	<b>vorher 8.00 Uhr [ng/L]</b>	<b>11.10 Uhr 260 mL [ng/L]</b>	<b>12.40 Uhr 280 mL [ng/L]</b>	<b>16.05Uhr 340 mL [ng/L]</b>	<b>Nachprobe [ng/L]</b>
MeAsH <sub>2</sub>	27	28	24	57	45
Me <sub>2</sub> AsH	153	156	144	1.029	1554
Me <sub>3</sub> As	< 0,05	< 0,05	3	< 0,05	n.n.
Hg <sup>0</sup>	4	13	< 0,03	29	8
MeHgH	< 0,03	< 0,03	< 0,03	4	3
BiH <sub>3</sub>	< 0,03	< 0,03	< 0,03	433	143
MeBiH <sub>2</sub>	1	< 0,03	< 0,03	< 0,03	4
Me <sub>2</sub> BiH	< 0,03	< 0,03	n.n.	< 0,03	n.n.
Me <sub>3</sub> Bi	< 0,03	< 0,03	n.n.	< 0,03	n.n.

positiv: Spezies ist vorhanden, Konzentration nicht bestimmbar

n.n. : nicht nachweisbar, Spezies eventuell vorhanden, Messung wurde unterbrochen

**Tabelle A18** Konzentrationen der nachgewiesenen metall- und metalloorganischen Verbindungen in Urinproben von drei Probanden vor und nach Verzehr einer metall- und metalloidgehaltigen Mahlzeit

	MeAsH <sub>2</sub> [ng/L]	Me <sub>2</sub> AsH [ng/L]	Me <sub>3</sub> As [ng/L]	Hg <sup>0</sup> [ng/L]	BiH <sub>3</sub> [ng/L]	Me <sub>3</sub> Bi [ng/L]
Proband I vor	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,06	< 0,06	< 0,06
Proband I nach	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,06	< 0,06	< 0,06
Proband II vor	< 0,1	96	< 0,1	< 0,06	< 0,06	< 0,06
Proband II nach	< 0,1	< 0,1	< 0,1	208	108601	n.n.
Proband III vor	91	1324	412	3409	< 0,06	< 0,06
Proband III nach	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,06	15451	n.n.

Tabelle A19 Konzentrationen der nachgewiesenen metall- und metalloorganischen Verbindungen in Speichelproben von drei Probanden vor und nach Verzehr einer metall- und metallohaltigen Mahlzeit

	AsH <sub>3</sub> [µg/kg]	MeAsH <sub>2</sub> [µg/kg]	Me <sub>2</sub> AsH [µg/kg]	Me <sub>3</sub> As [µg/kg]	SnH <sub>4</sub> [µg/kg]	MeSnH <sub>3</sub> [µg/kg]	Me <sub>2</sub> SnH <sub>2</sub> [µg/kg]	BuSnH <sub>3</sub> [µg/kg]	SbH <sub>3</sub> [µg/kg]
CRM 447 Muschelgewebe	11	3	15	< 0,0004	657	3	2	334	764
CRM 464 Thunfischmaterial	48	5	27	6	652	20	12	107	185
CRM 627 Thunfischgewebe	12	8	81	5	2250	1	2	40	117
	MeSbH <sub>2</sub> [µg/kg]	Me <sub>2</sub> SbH [µg/kg]	MeI [µg/kg]	Hg <sup>0</sup> [µg/kg]	MeHgH [µg/kg]	Me <sub>2</sub> Hg [µg/kg]	EtMeHg [µg/kg]	BiH <sub>3</sub> [µg/kg]	
CRM 447 Muschelgewebe	1	< 0,0002	< 0,0006	2	< 0,0002	< 0,0002	< 0,0002	15	
CRM 464 Thunfischmaterial	1	1	3	474	1629	4	16	525	
CRM 627 Thunfischgewebe	0,4	0,3	< 0,0006	331	890	< 0,0002	160	74	

Tabelle A 20 Nachgewiesene Spezies in den Referenzmaterialien CRM 447, CRM 464 und CRM 627

# *Lebenslauf*

## Persönliche Daten

Name: Jutta Kresimon  
Geburtsdatum: 12. 08. 1968  
Geburtsort: Mülheim an der Ruhr

## Schulische Ausbildung

1975-1979 Grundschule Blücherstraße, Mülheim an der Ruhr  
1979-1989 Gymnasium Heißen, Mülheim an der Ruhr

## Akademische Ausbildung

1989-1998 Universität Essen  
Studiengang Chemie DII mit dem Abschluss Diplom Chemikerin  
Thema der Diplomarbeit:  
„Parameterstudien zur Speziierung organischer Quecksilber-  
verbindungen mittels HG/LT-GC mit ICP-MS und AFS Detektion“

1998-2002 Universität Essen  
Anfertigung der vorliegenden Promotionsarbeit



## ***Veröffentlichungen***

Grüter UM, Kresimon J, Hirner AV

2000, A new HG/LT-GC/ICP-MS multi-element speciation technique for real samples in different matrices,  
Fresenius J Anal Chem, 368, 67-72

Hirner AV, Grüter UM, Kresimon J

2000, Metal(loid)organic compounds in contaminated soils,  
Fresenius J Anal Chem, 368, 263-267

Kresimon J, Grüter UM, Hirner AV

2001, HG/LT-GC/ICP-MS coupling for identification of metal(loid) species in human urine after fish consumption,  
Fresenius J Anal Chem, 371, 586-590

Grüter UM, Hitzke M, Kresimon J, Hirner AV

2001, Derivatization of organometal(loid) species by sodium borohydride; problems and solutions,  
J Chromatography A, 938, 225-236

Stang K, Kresimon J, Stang A, Rettenmeier AW, Hirner AV, Jöckel KH

2002, Population based study on the identification of metall(oid)organic species in human urine,  
eingereicht

## ***Posterpräsentationen***

Grüter UM, Kresimon J, Hirner AV

1999, Speziierung von zwölf Elementen in flüssigen, festen und gasförmigen Umweltproben mittels HG/LT-GC/ICP-MS-Kopplung,

15. ICP-MS Anwendertreffen, Institut für Festkörper und Werkstoffforschung, Dresden

Kresimon J, Grüter UM, Hirner AV

2001, Speciation of Ge, As, Se, Sn, Sb, Hg and Bi in human urine via HG/LT-GC/ICP-MS coupling,

2. Internationale Konferenz der Trace element Speciation in Biomedical, Nutrition and Environmental Science,  
GSF München